

00550
7



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

*Desarrollo de la metodología analítica para la
determinación de nonilfenoles en el acuífero del Valle del
Mezquital, Hidalgo(DR- 03)*

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. MARA NIDIA ELIZALDE MASTACHE



Ciencias
Químicas

TUTOR: M. EN C. SANTIAGO CAPELLA V. AÑO: 2008

A

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO:

Presidente: Dr. Alfonso Vázquez Botello
Vocal: Dra. Luz Elena Vera Ávila
Secretario: Dra. Blanca Elena Jiménez Cisneros
Primer Suplente: Dra. Martha Patricia García Camacho
Segundo Suplente: Dra. Alma Revilla Vázquez

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio 101 de la División de Estudios de Posgrado, Edificio B de la Facultad de Química, UNAM.

Q.F.B. Mara Nidia Elizalde Mastache
SUSTENTANTE

M. en C. Santiago Capella Vizcaíno
TUTOR

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

B

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo constituye un reconocimiento a quienes hicieron posible su realización:

A la Universidad Nacional Autónoma de México
por darme la oportunidad de alcanzar uno de mis mayores anhelos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT),
por la beca otorgada durante la realización de mis estudios.

Al M. en C. Santiago Capella Vizcaíno
porque el tiempo compartido fue realmente sustancial
para el logro de las metas alcanzadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A la Dra. Araceli Peña Alvarez y al M. en C. Francisco Rojo Callejas por sus valiosas aportaciones para la realización de este trabajo.

A la Dra. Ma. Aurora Armienta del Instituto de Geofísica, la Dra. Blanca Jiménez, y la M. en C. Ana Laura Deyta del Instituto de Ingeniería, por haber colaborado sustancialmente en el mejoramiento y el buen término del proyecto al que se le dedicó tanto esfuerzo.

Y de manera muy especial a la M. en C. Carmen Labastida Rubio, Técnico Académico del laboratorio 101 de la División de Estudios de Posgrado por sus enseñanzas, por su gran calidad como "Maestro" y principalmente por su gran calidad como "Ser Humano", porque sin ella no hubiera sido posible cumplir este sueño.

0

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DEDICATORIAS

A MI FAMILIA: Hermi, Ma. Eugenia, David, Ari, Marcos y Gus, cuyo amor fue la guía y el sustento de tan grande logro.

E

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE

I. RESUMEN	2
II. INTRODUCCIÓN	4
III. ANTECEDENTES	
3.1 El Acuífero del Valle del Mezquital	7
3.1.1 Distrito de Riego Tula (DR-03): Características	7
3.1.2 El rehúso de aguas residuales	7
3.1.3 Impacto del riego con agua residual	12
3.2 Disruptores endocrinos	13
3.2.1 Definición	13
3.2.2 Mecanismos de disrupción	15
3.2.3 Efectos sobre la salud	18
3.2.3.1 Efectos en el ser humano	18
3.2.3.2 Efectos sobre la fauna	20
3.2.4 Acciones en el ámbito nacional e internacional	22
3.2.4.1 Acciones internacionales	22
3.2.4.2 Acciones en el ámbito nacional. La Norma Oficial Mexicana	25
3.3 Alquilfenoles	28
3.4 Análisis de nonilfenoles	29
3.4.1 Métodos de análisis	29
3.5 Microextracción en fase sólida	32
3.5.1 Principios básicos	32
3.5.2 Recubrimientos	35
3.5.3 Aplicaciones	36
IV. OBJETIVOS	
4.1 Objetivo general	39
4.2 Objetivos específicos	39

V. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1 Material y equipo	41
5.1.1 Reactivos y estándares	41
5.1.2 Material	41
5.1.3 Instrumentación	42
5.2 Método	42
5.2.1 Elección de analito	42
5.2.2 Condiciones cromatográficas	43
5.2.3 Preparación de muestras para microextracción en fase sólida	44
5.2.4 Selección del estándar interno	46
5.2.5 Determinación de la linealidad, repetibilidad y límites de detección del método	46
5.2.6 Análisis de muestras provenientes del Acuífero del Valle del Mezquital. Aplicación del método	47
5.2.6.1 Muestreo	48
5.2.6.2 Análisis y cuantificación de muestras	48

VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1 Desarrollo del método	51
6.1.1 Evaluación de los parámetros que afectan el proceso de microextracción en fase sólida	52
6.1.1.1 pH y presencia de sales en la solución	52
6.1.1.2 Temperatura de extracción	55
6.1.1.3 Tipo de fibra	56
6.1.1.4 Tiempo de extracción	59
6.1.2 Evaluación de los parámetros de repetibilidad, linealidad y límite de detección del método	61
6.1.2.1 Selección de iones para el modo SIM	62
6.1.2.2 Selección del estándar interno	65
6.1.2.3 Repetibilidad del método	66
6.1.2.4 Linealidad del método	67

G

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

6.1.2.5 Límite de detección del método	69
6.1.3 Análisis de muestras del Acuífero del Valle del Mezquital	73
6.1.3.1 Muestreo	73
6.1.3.2 Análisis y cuantificación de muestras	74
VII. CONCLUSIONES	84
VIII. REFERENCIAS	86

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

I. RESUMEN

El uso de agua residual para riego agrícola se ha hecho práctica común en ciertas regiones, donde se han aprovechado sus propiedades para convertir tierras antes estériles en productivas. Un claro ejemplo es el Distrito de riego Tula (DR-03) en el Valle del Mezquital, Hidalgo, que desde 1896 emplea como agua de riego aquella proveniente de la depuración de las aguas residuales generadas en la zona metropolitana de la Ciudad de México. Los beneficios han sido múltiples, ya que se provocó el desarrollo de un acuífero, el cual es actualmente la principal fuente de abastecimiento de este recurso.

Debido a la naturaleza misma del agua existe preocupación por contaminación con sustancias químicas nocivas en el acuífero. En un estudio reciente, se monitoreó la presencia de compuestos orgánicos, encontrándose nonilfenoles. Diversas publicaciones han demostrado que estos compuestos se unen a receptores estrogénicos teniendo por tanto, el potencial de interferir con el sistema endocrino del ser humano, afectando cualquier proceso que involucre participación hormonal (Disrupción endocrina).

La presencia de nonilfenoles y sus posibles efectos se establecieron como precedente para desarrollar una metodología analítica confiable, eficiente y rápida basada en la microextracción en fase sólida- cromatografía de gases- espectrometría de masas (MEFS-CGC-EM) para su determinación en agua y su posterior aplicación al estudio del acuífero.

De esta forma, se evaluaron diferentes tipos de fibras para MEFS: PDMS, PDMS-DVB, CW-DVB y PA para seleccionar aquella que proporcionara mayor eficiencia en el proceso de extracción. A su vez, se estudió el efecto de diferentes variables sobre la extracción: temperatura (T.A., 45 y 60°C), pH (7 y 5) y fuerza iónica (NaCl al 5% y 0%). De los 4 tipos de fibra evaluados se encontró que la fibra de PDMS-DVB muestra la mejor eficiencia de extracción, estableciéndose así una técnica que si bien ha sido reportada en la literatura científica para el análisis de compuestos fenólicos, posee la ventaja de haber sido diseñada para la determinación exclusiva de nonilfenoles.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INTRODUCCIÓN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

II. INTRODUCCIÓN

La República Mexicana posee una superficie de cerca de $2 \times 10^6 \text{ km}^2$ y una precipitación pluvial anual de 777 mm, equivalente a $1522 \times 10^9 \text{ m}^3/\text{año}$ de agua. Este volumen de agua debería ser suficiente para todas las necesidades de la población, pero la desigual distribución geográfica y temporal de éste recurso, así como otros factores hacen que resulte escaso para el 75% de la población [1]. En contraste con esto, el volumen de agua residual ha ido en aumento.

El Valle del Mezquital se encuentra a unos 60 km de distancia del Distrito Federal, en el Estado de Hidalgo. Sus habitantes se dedican principalmente a la agricultura, y emplean como agua de riego aquella proveniente de la depuración de las aguas residuales que se generan en la zona metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM), la cual es descargada a través de la red de alcantarillado hacia esta zona, que forma parte del Distrito de Riego de Tula (DR 03). Durante más de un siglo de riego con agua residual, se ha modificado la hidrogeología regional, dando lugar al desarrollo de un acuífero, el cual es actualmente la principal fuente de abastecimiento para uso industrial, público-urbano, doméstico y pecuario.

Estos grandes volúmenes de agua residual vienen acompañados de una significativa carga contaminante debido a su misma naturaleza, a pesar de esto los estudios más recientes han mostrado que la mayoría de las sustancias químicas se encuentran dentro de los límites permitidos, establecidos por la Norma Oficial Mexicana sobre agua para uso y consumo humano. De estos contaminantes, y de acuerdo con los objetivos de este estudio, se da especial importancia a aquellos que tienen el potencial de interferir con el sistema endocrino del ser humano (disruptores endocrinos), afectando cualquier proceso que involucre participación hormonal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Trabajos recientes han reportado la existencia de disruptores en el agua del Acuífero del Valle del Mezquital [2]. Por tal motivo, el presente trabajo estableció como objetivo principal el desarrollo de una metodología analítica (MEFS- CG- EM) para la determinación de disruptores endocrinos en el acuífero del Distrito de Riego 03, con la finalidad de complementar los estudios del impacto del reúso de aguas residuales sobre la salud y sobre el medio ambiente en esta región.

El desarrollo del método tomó como base la microextracción en fase sólida (MEFS) para la preparación de muestra, debido a su versatilidad y las ventajas que ofrece: no emplea disolventes, velocidad de extracción, posibilidad de automatización y acoplamiento con instrumentos analíticos, además de la posibilidad de analizar muestras en matrices líquidas, sólidas o gaseosas. Esta condición, aunada al análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas, permite alcanzar la detección de niveles traza de contaminantes, que son de gran importancia por el peligro que representan para la salud y en especial los nonilfenoles por su valor como trazador en el sistema de recarga del acuífero del Valle del Mezquital.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANTECEDENTES

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

III. ANTECEDENTES

3.1 El Acuífero del Valle del Mezquital

3.1.1 Distrito de Riego Tula (DR-03): Características.

El Valle del Mezquital está ubicado en la porción suroccidental del Estado de Hidalgo; forma parte de la cuenca del Río Tula y en él se encuentra el Distrito de Riego Tula (DR-03), que es a nivel mundial una de las superficies mayores y con más tiempo de irrigación con aguas residuales [3]. Está conformado por 15 municipios: Actopan, Ajacuba, Atitalaquia, Atotonilco de Tula, Chilcuatla, Francisco I. Madero, Mixquiahuala, Progreso, San Salvador, Tepetitlán, Tetepango, Tezontepec de Aldama, Tlahuelilpan, Tlaxcoapan y Tula de Allende [2], algunos de los cuales se muestran en la figura 1 [4].

La región posee clima seco y semiárido, con temperatura media de 18°C y precipitación media anual de 450 mm/ año. Se abastece de los ríos San Luis, Tepejí, El Salto y Tula, así como de los volúmenes almacenados por las presas Taxhimay del Estado de México y Requena y Endhó de Hidalgo [5].

3.1.2 El reúso de aguas residuales

El rápido crecimiento poblacional ha provocado un incremento en la demanda de agua potable, recurso escaso en las regiones norte y centro de México donde el clima es semiárido. Estas condiciones han llevado a reconocer el valor que el agua residual representa como fuente de este recurso.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

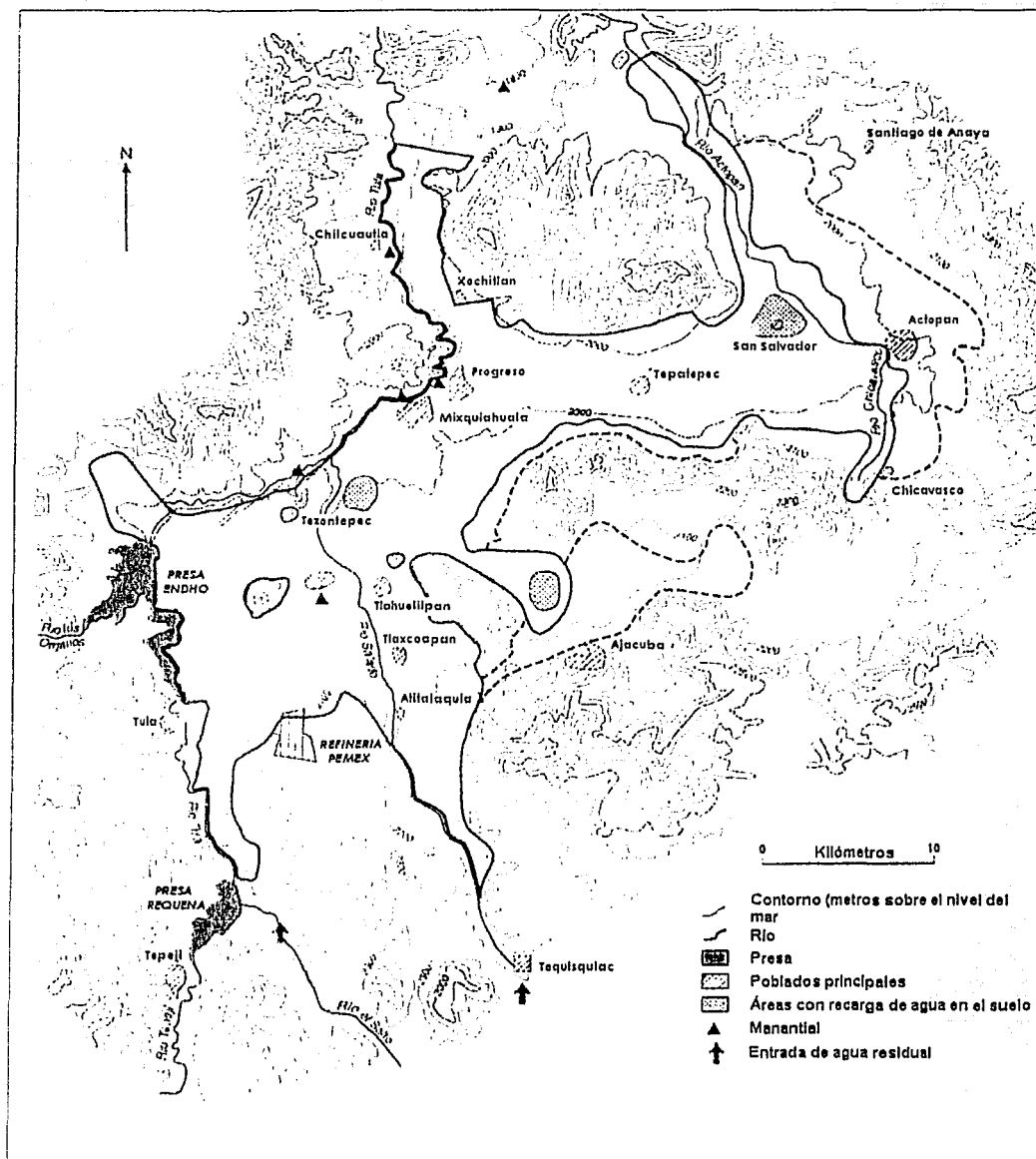


Figura 1. Mapa correspondiente al Distrito de Riego 03 [4]

El uso de agua residual para riego agrícola es práctica común en ciertas regiones, donde se han aprovechado sus propiedades para convertir tierras antes estériles en productivas, además de que se ha obtenido el beneficio de conservar aunque sea en un mínimo grado las fuentes naturales de agua.

La irrigación en el Valle del Mezquital empleando el agua residual proveniente de la Ciudad de México comenzó en 1896, en el centro del valle alrededor de Tlaxcoapan y Tlahuelilpan y se fue dispersando hacia Mixquiahuala. En esta etapa, el agua se descargaba en el Río Salado, de manera que la zona de irrigación se fue expandiendo hacia el área que abarcaba el río (figura 2). Para 1920, la importancia económica de la irrigación con aguas residuales llevó al establecimiento de un programa para establecer la infraestructura necesaria para estos fines. Fue en el año de 1926 cuando se terminó la construcción de la presa Requena, con una capacidad de 71 Mm³, y en 1934 la presa Taxhimay y la presa Endhó con capacidades de 50 y 182 Mm³ respectivamente. La construcción del Emisor Central en 1975 reemplazó paulatinamente la ruta de descarga del agua residual del centro de la Ciudad de México hacia el Río Salado. El área irrigada continúa en crecimiento. El agua excedente es regresada hacia los ríos Actopan y Tula para dirigirse hacia el Distrito de Riego 100 (figura 3) [4].

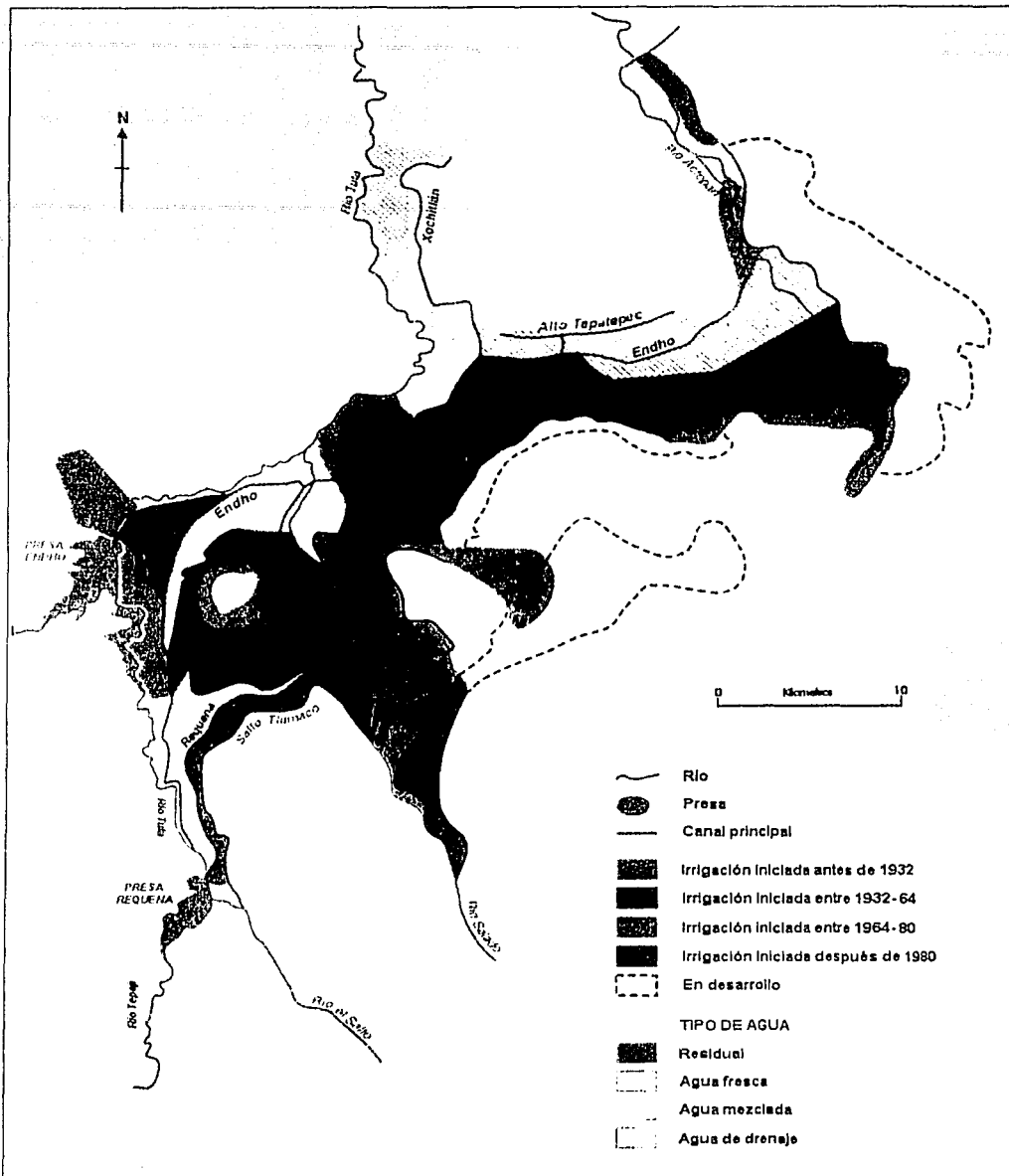


Figura 2. Desarrollo histórico de las áreas irrigadas [4]

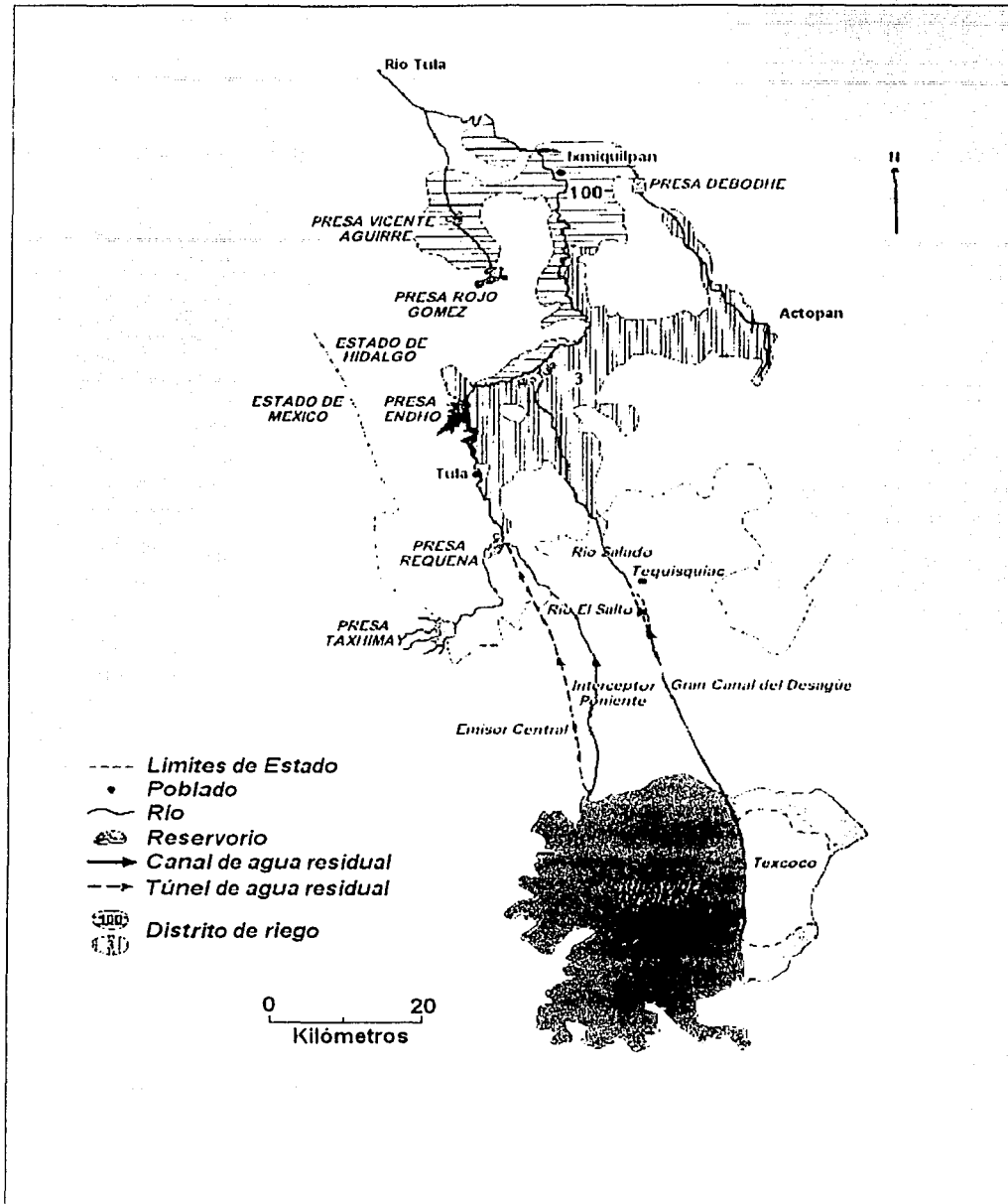


Figura 3. Ubicación del Distrito de Riego del Valle del Mezquital [4]

El Valle del Mezquital recibe un promedio de 40 m³/s de aguas residuales no tratadas provenientes de la ZMCM. El desagüe de la ciudad y en general, de la Cuenca del Valle de México es un sistema que se caracteriza por contar con cauces de conducción superficial a través de canales y ríos, y conducción profunda mediante colectores e interceptores, los cuales por sí mismos tienen un efecto purificador del agua residual [1]. Las salidas del sistema, que constituyen el sistema de entrada hacia el DR-03 son principalmente a través del Emisor Central (que acarrea el agua del centro de la ciudad), parte es distribuida directamente desde este punto vía el canal Salto-Tlamaco hacia el lado sur del valle, y vía el canal Requena al centro del Valle. El resto pasa por la presa Endhó para su almacenamiento y distribución vía el canal Endhó. Otra porción de agua entra a través de los túneles de Tequisquiác al Río Salado.

El agua residual de la refinería de PEMEX en Tula es descargada directamente a la Presa Endhó. La proveniente de la planta de la Comisión Federal de Electricidad es descargada a un canal adyacente que comunica a la Presa Endhó pasando a través del área de El Llano.

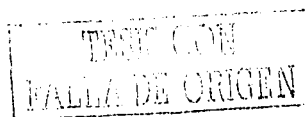
3.1.3 Impacto del riego con agua residual

El riego con agua residual modificó la hidrogeología regional y desarrolló un acuífero, con abundante alimentación inducida por el desarrollo agrícola. Como consecuencia, la superficie freática ascendió hasta alcanzar nuevos vertedores en las porciones bajas del valle, donde formó manantiales¹, inundó terrenos y afloró en los cauces principales².

Alrededor de un 17% del agua del acuífero se destina para uso doméstico y un 25% para uso agrícola. Los cultivos principales son maíz, alfalfa, frijol, tomate, chile, hortalizas,

¹ El manantial "Cerro Colorado" es uno de los más caudalosos. Brotó en el sector central del valle y es una de las principales fuentes de abastecimiento de agua.

² La mayor parte del agua es descargada hacia el río Tula, cuyo caudal creció de 50 a más de 400 Mm³/año en el lapso de 1945- 1995[3].



calabacita, avena y cebada. Sin embargo, a pesar del gran valor que el agua representa para los agricultores, ya que mejora la calidad del suelo por su carga de nutrientes, contiene también sales, organismos patógenos, compuestos orgánicos, detergentes, grasas, aceites y metales pesados que representan un riesgo potencial para la salud de los agricultores y consumidores tanto de los productos agrícolas como del agua.

El estudio del impacto del reúso de aguas residuales en el Valle del Mezquital se ha realizado desde hace varios años, pero la mayoría de las investigaciones se han enfocado a la presencia de metales pesados, organismos patógenos y la determinación de su toxicidad, así como la determinación de condiciones de tratamiento [6- 9].

Poca investigación se ha realizado en lo referente a la presencia de compuestos orgánicos. Destaca un monitoreo completo de compuestos orgánicos presentes en el agua del DR-03 [2], donde se reporta la presencia de numerosos compuestos aromáticos como alquilbencenos, derivados del naftaleno y alquilfenoles, destacando entre estos los nonilfenoles en concentraciones aproximadas de 31 partes por billón (ppb).

3.2 Disruptores endocrinos

3.2.1 Definición

En un principio, la regulación e investigación de sustancias químicas a nivel mundial, se enfocaba sobre el peligro de mutaciones genéticas, cáncer o defectos de nacimiento sin embargo, estudios realizados sobre ciertas sustancias como el DDT y el clordano llevaron al descubrimiento de que algunos compuestos antropogénicos se acumulaban en el organismo tanto de seres humanos como de animales silvestres, reconociendo un nuevo peligro, definido como disrupción endocrina [10].

Un disruptor endocrino se define como “un agente exógeno que interfiere con la síntesis, secreción, transporte, enlace, acción o eliminación de las hormonas naturales en el cuerpo, responsables del mantenimiento de la homeostasis, reproducción, desarrollo y/o comportamiento” [11, 12]. Estas sustancias al alterar las funciones del sistema endocrino, causan efectos adversos en el ser humano o en su progenie.

Muchas formas de vida, aún las más sencillas, regulan la expresión de su material genético de una manera refinada. Al aumentar esa complejidad los mecanismos reguladores se hacen cada vez más importantes en la supervivencia del organismo, su adaptación al medio y su reproducción. La respuesta de un organismo ante un medio que se encuentra en continuo cambio es integrada mediante una red de comunicación biológica formada por el sistema nervioso y el sistema endocrino. Juntos, provocan alteraciones en el metabolismo, la conducta y el desarrollo para cubrir necesidades internas y externas [13].

Las glándulas endocrinas sintetizan y segregan hormonas, moléculas que conducidas por el torrente sanguíneo, transfieren información de un grupo de células a otro [14, 15]. Son transportadas por la sangre a muy bajas concentraciones (ng o pg/mL) de forma libre o enlazadas a proteínas. Químicamente, son de tres tipos:

- Hormonas esteroideas: Poseen una estructura química basada en el núcleo esteroideo, similar al del colesterol, y en la mayor parte de los casos, derivados de éste (ejemplos: cortisol, aldosterona, estrógenos, progesterona, testosterona, etc.)
- Hormonas derivadas de la tirosina: Existen dos grupos, las hormonas tiroideas metabólicas: tiroxina y triyodotironina (formas yodadas de derivados de la tirosina), y las hormonas principales de la médula suprarrenal, adrenalina y noradrenalina (catecolaminas derivadas de la tirosina).
- Proteínas o péptidos.

Las hormonas se enlazan a superficies celulares específicas o receptores nucleares y llevan a cabo un importante efecto regulatorio, de crecimiento u homeostático. El sistema

endocrino incluye diversos órganos y tejidos (hipófisis, tiroides, paratiroides, páncreas, ovarios y testículos; la placenta, hígado, corteza suprarrenal, y células a través del tracto gastrointestinal), y como tal existen varios sitios potenciales donde un agente ambiental puede alterar la función endocrina. De esta forma, el deterioro del control hormonal puede ocurrir como consecuencia en la alteración de: síntesis, almacenamiento/ liberación, transporte/ depuración, reconocimiento del receptor/ enlace, o en las respuestas post-receptor [11].

3.2.2 Mecanismos de disrupción [14, 17]

Los estrógenos naturales están involucrados en el desarrollo y funcionamiento en la edad adulta del tracto genital femenino, tejidos neuroendocrinos y la glándula mamaria; además tienen un papel importante en el mantenimiento del ciclo menstrual, el embarazo y la lactancia. A nivel celular, promueven la proliferación celular y la degeneración de los órganos sexuales secundarios femeninos, e inducen la síntesis y secreción de proteínas celulares específicas. Estos efectos son mediados a través de receptores estrogénicos (ER). El receptor conocido ER α está presente en los órganos blanco de estrógenos, mientras que el receptor recientemente identificado como ER β está presente en la próstata, testículos, ovarios y algunas áreas del cerebro [16]. La interacción de la hormona con su receptor inicia una cascada de eventos que llevan al efecto asociado a esa hormona en particular. También sustancias exógenas pueden imitar, aumentar o disminuir la acción de éstas por medio de diversos mecanismos:

a) Alteración de la síntesis hormonal

Ciertos compuestos tienen la capacidad de inhibir la síntesis de varias hormonas. Las alteraciones en la síntesis de hormonas puede inducirse por

esteroides gonadales y consecuentemente por estrógenos ambientales y antiandrógenos. Tanto el estrógeno como la progesterona han mostrado influencia en la síntesis de la hormona pituitaria, de manera directa o por cambios en la glicosilación de la hormona luteinizante (LH) y la hormona foliculo-estimulante (FSH). Una disminución en la síntesis de estas glicoproteínas reduce la actividad biológica de las hormonas, de manera que cualquier compuesto que imite o antagonice la acción de hormonas esteroidales puede alterar el proceso de glicosilación. Algunos otros compuestos inhiben pasos enzimáticos específicos en la ruta biosintética de la esteroidogénesis (cianocetona, ketoconazol).

b) Alteración en el almacenamiento o liberación de la hormona

Las catecolaminas son hormonas que se almacenan en vesículas de cierto tipo de células dentro de la médula adrenal o las terminales presinápticas en el sistema nervioso central. Este mecanismo de almacenamiento es importante para mantener las concentraciones adecuadas de la hormona, de manera que puedan liberarse rápidamente cuando son requeridas. La reserpina y las anfetaminas son sustancias que inhiben el proceso de almacenamiento. Otro caso lo constituye la testosterona, que no es almacenada en gránulos, sino que se sintetiza en las células de Leydig en los testículos y liberadas por activación del receptor LH. De esta forma, los compuestos que bloquean el receptor o la activación del AMP cíclico dependiente de la cascada involucrada en la síntesis de testosterona, pueden alterar la secreción de la hormona.

c) Alteración en el transporte y depuración hormonal

Las hormonas se transportan a través de la sangre en forma libre o enlazada. En el caso de las hormonas liposolubles, éstas viajan de manera enlazada a las globulinas, que son proteínas específicas sintetizadas en el hígado. La regulación en la concentración de estas globulinas en la sangre puede incrementar o disminuir la

disponibilidad de las hormonas en el cuerpo. Algunas sustancias que producen este efecto son los salicilatos y los glucocorticoides.

La depuración de las hormonas esta influida por compuestos que alteran las enzimas hepáticas involucradas en este proceso. Como ejemplo se mencionan los compuestos análogos del DDT, que son potentes inductores de la actividad de la enzima monooxigenasa microsomal hepática, que produce la degradación de los andrógenos, disminuyendo la concentración de andrógenos testiculares.

d) Alteración en el reconocimiento del receptor/ enlace

Las hormonas responden a sus tejidos blanco a través de interacciones con receptores intracelulares o receptores enlazados a membrana. Los receptores intracelulares regulan la transcripción genética a través de su interacción con secuencias específicas de DNA, sintetizándose RNA mensajero para la producción de nuevas proteínas. Varios agentes ambientales alteran este proceso mimetizando los ligantes naturales y actuando como agonista, o bien inhibiendo el enlace y actuando como antagonista. Algunos compuestos que actúan de esta forma incluyen el metoxicloro, kepona, DDT, algunos bifenilos policlorados (PCBs) y los alquilfenoles.

e) Alteración en la activación post-receptor

Una vez que el ligante endógeno o un agonista se enlaza a su receptor, se inicia una cascada de eventos, indicativa de que se dio la respuesta celular apropiada. Esto incluye la respuesta necesaria para la transducción de la señal a través de la membrana o, en el caso de los receptores nucleares, la iniciación o la alteración en la transcripción y síntesis de proteínas. El lindano ha demostrado alterar este proceso.

3.2.3 Efectos sobre la salud

3.2.3.1 Efectos en el ser humano [19]

Uno de los primeros casos relacionados y que fue la punta de lanza para la investigación sobre agentes disruptores fue el relacionado al Dietilestilbestrol (DES), empleado para prevenir el aborto. Comenzó a prescribirse en los años de 1950s, hasta 1972 cuando en Estados Unidos se detectó la presencia de cáncer en los niños de mujeres que recibieron dicho tratamiento. Las mujeres expuestas durante el periodo de gestación mostraron un aumento en la incidencia de cáncer vaginal, además de deformidades estructurales del tracto reproductivo, infertilidad, embarazos no llevados a término, así como mayor susceptibilidad a enfermedades autoinmunes como el reumatismo. Los hombres expuestos *in utero* al DES sufrieron de disminución en el desarrollo testicular, incremento de los casos de cáncer testicular y anomalías genitales como hipospadias³ y poco desarrollo del pene [17, 19].

- a) Efectos en el tracto reproductor masculino: Aunque ha estado sujeto a controversia el hecho de que la producción de esperma en el hombre ha disminuido en todo el mundo durante los últimos 50 años, se ha establecido la hipótesis que responsabiliza de este hecho a la exposición *in utero* a estrógenos ambientales. Los análisis realizados arrojaron las cifras de $113 \times 10^6/\text{mL}$ en 1938 a $66 \times 10^6/\text{mL}$ en 1990. Aunado a este problema también se han presentado mayores casos de criptorquidia⁴, hipospadia, cáncer testicular y cáncer de próstata.

³ En esta malformación congénita, la uretra no se extiende por toda la longitud del pene, sino que se abre en su cara inferior, en el cuerpo del órgano o, en casos extremos entre el recto y el escroto.

⁴ La criporquidia es la ausencia de descenso testicular la cual, comúnmente debe presentarse al octavo mes de vida fetal. [18]

- b) **Cáncer de mama:** El cáncer en el pecho es uno de los casos de mayor incidencia en mujeres alrededor del mundo, razón que aumentó entre un 5 y 25% en el periodo comprendido entre 1973 y 1987.
- c) **Endometriosis:** La endometriosis se caracteriza por un crecimiento aberrante de las células del endometrio fuera del útero y la resultante dismenorrea debido al desprendimiento del tejido generado por inducción estrogénica, y el sangrado interno posterior. Este padecimiento se ha asociado a la exposición a altos niveles de PCBs.
- d) **Efectos en la fertilidad, incluyendo proporción de sexos:** Se ha encontrado que el 50% de los problemas de fertilidad se encuentran relacionados a la función reproductiva en el hombre. Existen casos bien documentados de alteraciones en esta función por exposiciones a agentes como el dibromocloropropano, plomo, kepona, DDT, DDD, DDE, lindano y PCBs. La proporción entre hombres y mujeres también ha sido empleada como indicador de la fertilidad humana. Después del accidente en Seveso que provocó exposición a la dioxina, se registró un incremento en el nacimiento de mujeres en el periodo de abril de 1977 a diciembre de 1984.
- e) **Efectos en la tiroides:** Las hormonas tiroideas juegan un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis del cuerpo. La alteración de su estatus puede llevar a cambios en el metabolismo basal, en la función cardiovascular, gastrointestinal y muscular. Los PCBs son algunas de las sustancias que se ha observado, modifican este patrón de funcionamiento.
- f) **Efectos al sistema nervioso central y neuroendocrinos:** Estudios realizados, reportaron que niños nacidos de mujeres expuestas a aceite de pescado o de arroz contaminados con PCBs, mostraron desarrollo mental retardado, con bajo coeficiente intelectual, pobre memoria de reconocimiento visual y dificultades de comportamiento, así como retraso en el desarrollo psicomotor.

3.2.3.2 Efectos sobre la fauna

Existe mucha evidencia sobre efectos adversos en la salud de la fauna por exposición a contaminantes ambientales. Las siguientes tablas ejemplifican algunos de los resultados observados en mamíferos (tabla I y II) [17]:

TABLA I. Efectos disruptores sobre la reproducción en mamíferos

EFEECTO	LOCALIZACIÓN	ESPECIE	CONTAMINANTE ASOCIADO
Criptorquidia	Florida	Pantera	Mercurio, <i>p,p'</i> -DDE, PCBs
Masculinización	Alberta (Canadá)	Oso negro y café	Desconocido
Masculinización	Spitsbergen	Oso polar	PCBs
Nacimientos prematuros	California, E.U.A.	Leones marinos	Derivados del DDT
Disminución en la fecundidad y falla en la implantación	Mar Wadden, NL	Focas	PCBs y metabolitos
Esterilidad	Mar báltico	Focas	PCBs
Disminución en el tamaño de la población	Lago Samimaa, Finlandia	Focas	Mercurio
Disminución en la fecundidad, hermafroditismo	Bahía St. Law, Canadá	Ballenas beluga	PCBs, dieldrín, 2,3,7,8-TCDD
Disminución en los niveles de testosterona	Océano Pacífico	Marsopas	PCBs, DDE

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA II. Efectos disruptores en mamíferos terrestres y acuáticos

EFEECTO	LOCALIZACIÓN	ESPECIE	CONTAMINANTE ASOCIADO
Lesiones en el cráneo	Mar Báltico, Alemania, Mar Wadden	Focas	DDT/DDE, PCBs
Estenosis uterina ⁵ , oclusiones	Mar Báltico	Focas	DDE, PCBs, metilsulfonas
Incremento en la proporción de lesiones e infecciones, disminución en los niveles de retinol hepático	Dinamarca	Nutria europea	PCBs
Bajos niveles de vitamina A y hormonas tiroideas	Holanda, Mar Wadden	Focas	PCBs
Lesiones en el cráneo (osteoporosis)	Mar Báltico	Focas	PCBs, DDT/DDE
Hiperplasia adenocortical ⁶	Mar Báltico	Focas	PCBs
Muerte en masa	E.U.A., Océano Atlántico, Mar Mediterráneo	Delfines	<i>o,p'</i> -DDE, <i>p,p'</i> -DDE, <i>o,p'</i> -DDT, PCBs
Desórdenes patológicos	Canadá	Ballenas beluga	Organoclorados

⁵ Obstrucción de la luz del cuello uterino

⁶ Es una función anormal de las glándulas suprarrenales de tipo congénito que condiciona excesiva producción de hormonas androgénicas

3.2.4 Acciones en el ámbito nacional e internacional

3.2.4.1 Acciones internacionales

Los científicos aseguran que existe una gran cantidad de sustancias químicas capaces de interactuar en nuestro organismo. La magnitud del problema es incierta, por lo que el análisis de disruptores es de suma importancia debido a su continua presencia en desechos industriales y aguas naturales.

La amenaza de daño hacia la salud reproductiva del ser humano y el impacto en la salud y reproducción de la fauna como resultado de la exposición a sustancias disruptoras en la dieta y el ambiente es un tema que poco a poco ha tomado mayor interés. Durante los últimos años, se han realizado gran cantidad de estudios, y hay evidencia concluyente de que se ha afectado a la fauna y al ser humano.

Numerosas organizaciones han publicado listas de posibles agentes disruptores, entre ellas, se encuentran por sólo mencionar algunas:

- La Comisión Europea
- El Parlamento Europeo
- La Agencia de Protección al Ambiente de E.U.A. (EPA)
- El Programa para el Ambiente de las Naciones Unidas (UNEP)
- La Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OECD)
- La Comisión de la Convención para la Protección del Ambiente Marino en el Atlántico Noreste (OSPAR)
- La Agencia Europea para el Ambiente
- Organizaciones no gubernamentales
- Industria química

Con base en todos estos estudios, se ha decidido llevar a cabo una investigación más profunda sobre tales listas con el fin de determinar y evaluar la confiabilidad en el criterio de selección usado para establecerlas, a la vez que se incluya información de las fuentes, usos de dichas sustancias y las rutas por las cuales pueden estar expuestos el ser humano y los animales.

La tabla que se muestra a continuación en uno de los primeros frutos de este trabajo, realizado por la Comisión Europea e incluye 66 pesticidas, biocidas y químicos de uso industrial (tabla III) [19]:

TABLA III. Compuestos con posible actividad disruptora bajo investigación por la Comunidad Europea (Riesgo por exposición)

PESTICIDAS			
Clordano	Alto	Metam Natrium	Alto
Clordano (cis y trans)	Alto	Tiram	Alto
Kepona	Alto	Lindano	Alto
Mirex	Alto	Linuron	Alto
Toxafeno	Alto	Atrazina	Alto
DDT	Alto	Acetoclor	Alto
p, p'-DDT	Alto	Alaclor	Alto
Tetracloro DDT	Alto	Trifenilestaño	Alto
Vinclozolina	Alto	Nitrofen	Medio
Maneb	Alto		
QUÍMICOS DE USO INDUSTRIAL			
Estireno	Alto	Aroclor 1260	Alto
Butilbencil ftalato	Alto	Bifenil éteres polibromados	Alto
Di(2-etil hexil) ftalato	Alto	1,2,3,7,8 Pentaclorobenzodioxina	Alto

TABLA III. Continuación

QUÍMICOS DE USO INDUSTRIAL			
Di-n-butil ftalato	Alto	2,3,7,8 Tetraclorobenzo-p-dioxina	Alto
Bisfenol A	Alto	1,2,3,7,8 Pentabromodibenzofurano	Alto
PCB	Alto	3,4-Dicloroanilina	Alto
PCB 153	Alto	Resorcinol	Alto
PCB 169	Alto	Amitrol	Medio
PCB 47	Alto	4-tert-octilfenol	Medio
PCB 77	Alto	Nonilfenol	Medio
Aroclor 1242	Alto	Tetrabutilestaño (TTBT)	Bajo
Aroclor 1248	Alto	4-Nitrotolueno	Bajo
Aroclor 1254	Alto		
BIOCIDAS			
Hexaclorobenceno	Alto	Estanano, tributil(1-oxo-9-octadecenil)	Alto
Tributilestaño	Alto	Estanano, tributil 1,2,3,4,4 ^a ,4b,5,6,1	Alto
Compuestos de tributilestaño	Alto	Estanano, tributilfluoro	Alto
Oxido de tributilestaño	Alto	Tributil[(2-metil-1-oxo-2-propenil)oxi]estanano	Alto
Estanano, tributilmetacrilato	Alto	Tributilestaño carboxilato	Alto
Metoxietilacrilato tributilestaño (copolimero)	Alto	Tributilestaño naftalato	Alto
Fenol,2-[(tributilstanil)oxi]carbonil	Alto	Tributilestaño polietoxilato	Alto
Estanano, 1,2-fenilenbis(carboniloxi)	Alto	Tri-n-propilestaño (TPrT)	Alto
Estanano, tributil	Alto	Fentin acetato	Alto
Estanano, tributil-, mononaftenoiloxi)	Alto		

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.2.4.2 Acciones en el ámbito nacional. La Norma Oficial Mexicana

Como ya se había mencionado anteriormente, en México el grueso de la investigación se enfoca sobre el estudio de tratamiento de aguas y sobre métodos para la eliminación de microorganismos y contaminantes globales como materia orgánica. La información es muy general en lo referente a la contaminación por sustancias químicas.

La legislación en materia de agua, ya sea potable o residual, aún es muy ambigua. La NOM-001-ECOL-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales⁷ [20], lo demuestra con el hecho de que a pesar de haber zonas como el Valle del Mezquital donde se reusa el agua residual para riego desde hace más de un siglo, sólo se establecen límites para contaminantes como cianuros, arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo y zinc. En lo referente a compuestos químicos específicos, no se establecen límites.

En lo referente al agua potable, la NOM-127-SSA1-1994 (Salud ambiental, agua para uso y consumo humano- Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización [21]) establece los siguientes límites de características químicas⁸ (tabla IV).

⁷ Los bienes nacionales, son aquellos cuya administración está a cargo de la Comisión Nacional del Agua como es el caso del DR-03.

⁸ Aquellas debidas a elementos o compuestos químicos, que como resultado de investigación científica se ha comprobado que pueden causar efectos nocivos a la salud humana.

TABLA IV. Límites permisibles de características químicas en agua para consumo humano (NOM-127-SSA1-1994)

CARACTERÍSTICA	LÍMITE PERMISIBLE (mg/L)
Aluminio	0.20
Arsénico	0.05
Bario	0.70
Cadmio	0.005
Cianuros (como CN ⁻)	0.07
Cloro residual libre	0.2- 1.50
Cloruros (como Cl ⁻)	250.00
Cobre	2.00
Cromo total	0.05
Dureza total (como CaCO ₃)	500.00
Fenoles o compuestos fenólicos	0.001
Hierro	0.30
Fluoruros (como F ⁻)	1.50
Manganeso	0.15
Mercurio	0.001
Nitratos (como N)	10.00
Nitritos (como N)	0.05
Nitrógeno amoniacal (como N)	0.50
pH	6.8- 8.5
Plaguicidas en µg/L: Aldrín y dieldrín (separados o combinados)	0.03
Clordano (total de isómeros)	0.30
DDT (total de isómeros)	1.00
γ-HCH (lindano)	2.00
Hexaclorobenceno	0.01

TABLA IV. Continuación	
Heptacloro y epóxido de heptacloro	0.03
Metoxicloro	20.00
2,4-D	50.00
Plomo	0.025
Sodio	200.00
Sólidos disueltos totales	1000.00
Sulfatos (como SO_4^{2-})	400.00
Sustancias activas al azul de metileno	0.50
Trihalometanos totales	0.20
Zinc	5.00

De las sustancias químicas enumeradas, aparecen varias que se consideran disruptores endocrinos: Compuestos fenólicos (alquilfenoles), aldrín, dieldrín, clordano, DDT, lindano, hexaclorobenceno, etc.

Esta última norma, es aplicable al agua proveniente del acuífero, ya que como se mencionó anteriormente, alrededor de un 17% se destina para uso doméstico [6- 9]. Cabe recalcar que de estudios previos realizados en el DR-03, un monitoreo completo de compuestos orgánicos reportó la presencia de compuestos aromáticos como alquilbencenos, derivados del naftaleno y alquilfenoles, destacando entre estos los nonilfenoles en concentraciones aproximadas de 0.031 mg/L, niveles que sobrepasan las especificaciones de la norma y que además, son potenciales agentes disruptores.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.3 Alquilfenoles

Los nonilfenoles (conocidos también como NP por sus siglas en inglés) se derivan principalmente de los alquilfenoles polietoxilados (APEOs), uno de los grupos de surfactantes no iónicos de mayor producción comercial cuyo uso se introdujo en los años de 1940s. Es una sustancia química que se produce en gran volumen a nivel mundial con más de 1000 toneladas por año, de las cuales aproximadamente el 80% corresponde a nonilfenoles y el 20% restante a octilfenoles. La degradación de estas sustancias durante el tratamiento de aguas residuales por medio de lodos activados produce derivados mono o dietoxilados que son degradados posteriormente a alquilfenoles [22-23].

Tanto los octil como los nonilfenoles son ampliamente utilizados para la fabricación de detergentes, emulsificantes, agentes humectantes y dispersantes en pinturas, antioxidantes de plásticos, pesticidas, y como agente estabilizador del cloruro de polivinilo (PVC). También se emplean como aditivos en aceites lubricantes, y como espermicidas en espumas anticonceptivas. Además, se ha demostrado que se liberan de productos de poliestireno y PVC.

Las principales rutas de exposición a los nonilfenoles son por contacto directo de la sustancia liberada a partir de productos de PVC y poliestireno como ya se había mencionado previamente y a través de alimentos contaminados. En el ambiente, se encuentran principalmente en sedimentos. Los nonilfenoles no se acumulan en el organismo del ser humano [24].

La capacidad disruptora de esta sustancia, como la de muchas otras antropogénicas, fue descubierta accidentalmente cuando se estudiaban los efectos de estrógenos naturales, al realizar los experimentos en material de plástico [16]. Estudios posteriores dieron cuenta de la relación estructura actividad, de manera que para ser activos, los alquilfenoles deben poseer las siguientes características [19]:

- ✓ La cadena alquílica debe poseer al menos tres átomos de carbono y no poseer enlaces carbono-oxígeno.
- ✓ El anillo bencénico debe estar *para-* sustituido.

Los nonilfenoles y en menor proporción los octilfenoles son liberados al ambiente a través de la degradación de los alquilfenoles etoxilados, pero a pesar de ser biodegradables, se han llegado a encontrar en agua, sedimentos y animales, de manera que representan un riesgo para los seres vivos. Los NP han demostrado unirse a receptores estrogénicos, induciendo la actividad mitótica en útero de rata, incrementando el peso uterino en ratas y ratones y acelerando la apertura vaginal. El tratamiento con NP aplicado a machos en desarrollo y adultos produce alteraciones en el tracto reproductivo: decremento en la masa testicular y epididimal así como disminución en la cantidad de espermatozoides [25].

3.4 Análisis de nonilfenoles

3.4.1 Métodos de análisis

Uno de los usos de aguas y lodos residuales que ha tenido mayor aceptación es como fertilizante en agricultura. México no es la excepción, ya que cuenta con la zona del Valle del Mezquital que durante más de un siglo ha irrigado los cultivos con el agua residual proveniente de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. El proceso de infiltración ha provocado el desarrollo de acuíferos que son la principal fuente de abastecimiento de agua para uso público-urbano y doméstico, entre otros. Por su mismo origen y por la presencia de contaminantes tóxicos y persistentes, se han generado diversos cuestionamientos acerca de esta aplicación.

El espectro de contaminantes orgánicos antropogénicos que están presentes en el agua es muy amplio y cambia constantemente dependiendo de muchos factores. Entre estos

contaminantes se encuentran los nonilfenoles, cuyas características y aplicaciones se han mencionado anteriormente. Debido al riesgo que representan y a los bajos niveles en los que se encuentran en el medio ambiente, se ha requerido de métodos altamente sensibles para su determinación y cuantificación, además de la necesidad previa de emplear procedimientos de preparación de muestras.

La siguiente tabla presenta de manera muy general algunas de las técnicas empleadas en los últimos ocho años para el análisis de fenoles (tabla V).

TABLA V. Condiciones experimentales para la determinación de fenoles en muestras ambientales

COMPUESTO	TÉCNICA	PREPARACIÓN DE MUESTRA	REFERENCIA
Fenoles	GC-FID, Columna DB-5 (30m * 0.53mm * 1.5 µm)	Microextracción en fase sólida (MEFS) PA (85µm), PDMS (100µm)	Barták [26]
Clorofenoles	GC-MS, Col. HP-5 MS (30m * 0.25mm * 1.5 µm)	MEFS CW-DVB, PDMS-DVB (65µm)	Moeder [27]
Cloro y Nitrofenoles	GC-FID, GC-MS, Col. PTE-5 (30m * 0.25mm * 1.5 µm)	MEFS PDMS (100µm), PA (95µm)	Buchholz [28]
Fenoles etoxilados	LC-ESI-MS, Col. LiChrospher 100 RP-18 (25cm * 4mm * 5 µm)	Extracción MeOH/ CH ₂ Cl ₂ 7/3 v/v	Petrovic [29]
Nonilfenoles etoxilados	HPLC-MS, Col. MS Pak GF-310 4D (filtra. en gel) (15cm * 4.6mm)	Extracción	Ferguson [30]
Alquilfenoles	HPLC-UV, Col. LiChrospher 100 RP-18 (25cm * 4mm, 5µm)	Extracción en fase sólida (EFS)	Kvistad [31]

TABLA V. Continuación

Alquilfenoles etoxilados	HPLC-UV, Col. LiChrosorb-NH ₂ (25cm * 4.6mm) GC-MS, Col. DB-5.625 (30m * 0.25mm, 0.25µm)	Extracción liq-liq Derivatización con N,O- bis(trimetilsilil)trifluoro- acetamida (BSTFA)	Rudel [32]
Fenoles	GC-MS, Col. HP-5-MS (30m * 0.25mm, 0.25µm)	Extracción liq-liq, EFS, Derivatización con N-metil- N-(tert.-butildimetiltrifluoro acetamida) (MTBSTFA)	Mol [33]
Alquilfenoles	GC-MS, Col. DB-35 MS (30m * 0.25mm, 0.25µm)	Extracción liq-liq, derivatización con BSTFA	Helaleh [34]
Nonilfenoles etoxilados (oligómeros)	LC-ESI-MS, Col. Shodex MSPack GF-310 2D (15cm * 2.1mm, 5µm)		Takino [35]
Fenoles	LC-ED, Col. Capcell pak UG 120 C ₁₈ (15cm * 4.6mm)	EFS	Inoue [36]
Alquilfenoles etoxilados	Varias (revisión)		Hoffman [37]
Fenoles	Varias (revisión)		Bruzzoniti [38], Clement [39], Castillo [40]

Como se ha observado, la mayoría de los trabajos emplean la extracción líquido- líquido como método de preparación de muestra; sin embargo, la situación actual en materia de contaminación ha marcado una fuerte tendencia hacia el empleo de tecnologías cuya emisión de contaminantes sea baja o nula [41]. Entre estas destaca la microextracción en

fase sólida (MEFS o SPME por sus siglas en inglés), que se caracteriza por ser un método rápido, simple y sensible para el pretratamiento de muestras.

3.5 Microextracción en fase sólida

La microextracción en fase sólida (MEFS) presenta muchas ventajas sobre los métodos analíticos tradicionales ya que combina el muestreo, pre- concentración y la transferencia de los analitos a un instrumento de análisis.

3.5.1 Principios básicos

El proceso de MEFS consta de dos pasos: el reparto de los analitos entre el recubrimiento y la matriz de la muestra, seguida por la desorción del extracto concentrado dentro del instrumento.

El transporte de los analitos desde la matriz de la muestra hasta el recubrimiento comienza desde el momento en que ambos se ponen en contacto (figura 4). El proceso se considera completo cuando la concentración del analito ha alcanzado el equilibrio de distribución entre las dos fases. Esto significa que una vez que se ha llegado al equilibrio, la cantidad extraída se mantiene constante, independientemente de un incremento en el tiempo de exposición [42- 43].

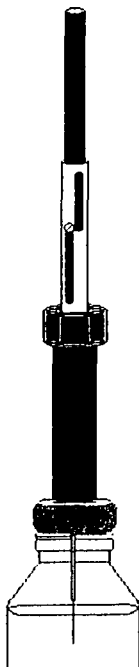


Figura 4. Proceso de extracción por MEFS (modo directo)

Las condiciones de equilibrio vienen dadas por la siguiente fórmula:

$$n = \frac{K_f V_f V_s C_0}{K_f V_f + V_s}$$

Donde n es el número de moles de analito extraídas por el recubrimiento, K_f es la constante de distribución recubrimiento/ matriz de muestra, V_f es el volumen de recubrimiento de la fibra, V_s es el volumen de muestra, y C_0 es la concentración inicial del analito en la muestra.

Estrictamente hablando, la fórmula se limita a un equilibrio de reparto que involucra recubrimientos de fibra líquidos. El análisis para adsorbentes sólidos es análogo, ya que el área superficial disponible para la adsorción es proporcional al volumen de recubrimiento si se asume porosidad constante en el adsorbente [43].

La MEFS permite realizar extracciones por tres formas: extracción directa, "headspace" o extracción al espacio de la cabeza y con membrana (como se ilustran en la figura 5).

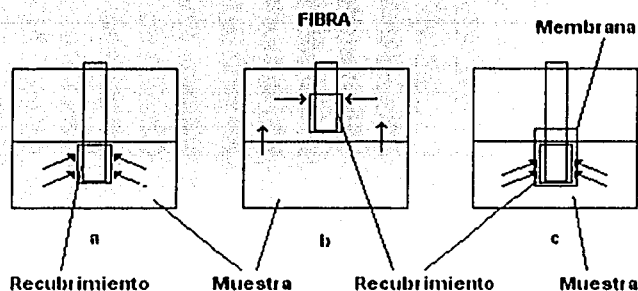


Figura 5. Modos de extracción por MEFS: a) Extracción directa, b) "Headspace", c) Membrana

En el primero (Fig. 5a), la fibra se introduce directamente en la muestra. Para facilitar la extracción, se requiere de agitación para el transporte de los analitos desde la solución hasta la vecindad de la fibra. En la extracción por "Headspace" (Figura 5b), los analitos necesitan ser transportados a través del aire para que puedan alcanzar el recubrimiento. De esta forma, se protege la fibra de la acción de sustancias de alto peso molecular e interferencias no volátiles presentes en la muestra. En la figura 5c la fibra, protegida por una membrana, se introduce en la muestra de forma que se encuentra protegida de sólidos presentes en la solución que puedan dañar el recubrimiento.

La elección del modo de extracción influye de manera significativa en la cinética del proceso. En la extracción por "headspace", los analitos primeramente son removidos de la

fase vapor, seguido por la extracción de aquellos presentes en la matriz de la muestra (de menor volatilidad). Por tanto, los analitos volátiles se extraen más rápido que los semivolátiles, ya que se encuentran en mayor concentración en la fase vapor, lo que contribuye a una mayor velocidad de transporte de masa a través del medio. La temperatura también juega un papel importante en la cinética de extracción, ya que determina la presión de vapor de los analitos.

El modo de extracción con membrana tiene como finalidad proteger a la fibra de daños cuando se analizan muestras muy sucias.

3.5.2 Recubrimientos

Como se mostró en la ecuación, la eficiencia del proceso de extracción depende de la constante de distribución K_f , parámetro que indica las propiedades del recubrimiento y su selectividad hacia determinado analito contra otros componentes de la matriz. De esta forma se han desarrollado varios recubrimientos para una amplia gama de aplicaciones. Comercialmente se tienen las siguientes opciones [44]:

- ✓ Polidimetilsiloxano (PDMS)
- ✓ Polidimetilsiloxano/ Divinilbenceno (PDMS-DVB)
- ✓ Carbowax/ Divinilbenceno (CW-DVB)
- ✓ Poliacrilato (PA)
- ✓ Carboxen/ Polidimetilsiloxano (Carboxen- PDMS)
- ✓ Divinilbenceno/ Carboxen (DVB- Carboxen)
- ✓ Carbowax/ Resina Templada (CW-TPR)

La naturaleza química del analito determina el tipo de recubrimiento a emplear aplicando la regla de "lo similar atrae a lo similar". Así, las fibras poco polares como PDMS, se emplean para la extracción de compuestos poco polares, en cambio fibras polares como PA o CW-DVB se utilizan para la extracción de analitos polares.

La primera versión comercial de este dispositivo fue introducida por Supelco en el año de 1993, y a partir de esta fecha se ha empleado para un sinnúmero de aplicaciones por las ventajas que ofrece: no emplea disolventes, velocidad de extracción, posibilidad de automatización y acoplamiento con instrumentos analíticos.

3.5.3 Aplicaciones

Otra característica importante de la microextracción en fase sólida y que ha permitido su empleo en diferentes campos es la posibilidad de analizar muestras en matrices líquidas, sólidas o gaseosas:

- Ambiental: Ampliamente utilizada para la determinación de contaminantes prioritarios en agua, aire, sedimentos y suelos, como los pertenecientes a los grupos BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos), PAHs (hidrocarburos aromáticos polinucleares), PCBs, (bifenilos policlorados), pesticidas, herbicidas, etc.
- Alimentos: Para la caracterización de compuestos responsables del aroma o sabor, contaminación por disolventes orgánicos, etc.
- Farmacéutica: Determinación de contaminantes volátiles (disolventes), etc.
- Clínica y forense: Es de gran utilidad por la facilidad de transporte hasta el sitio de muestreo y su posterior análisis, análisis de alcohol y drogas en fluidos biológicos, etc.

El campo de aplicación de la MEFS está limitado a la disponibilidad de los instrumentos necesarios y principalmente a los recubrimientos disponibles, de manera que a medida que se vayan desarrollando nuevas fases, se podrán ampliar los horizontes de investigación con esta técnica.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

OBJETIVOS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Diseñar la metodología analítica basada en la Microextracción en Fase Sólida para la determinación de Nonilfenoles en agua y su posterior aplicación en el análisis del acuífero del Distrito de Riego Tula (DR-03) en el Valle del Mezquital, Hidalgo.

4.2 Objetivos específicos

- Establecer el procedimiento de análisis por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas para la determinación de Nonilfenoles en agua.
- Evaluar los parámetros que afectan el proceso de microextracción en fase sólida de Nonilfenoles y determinar las condiciones óptimas de extracción que permitan mejorar la sensibilidad del método cromatográfico en conjunto.
- Evaluar la linealidad, repetibilidad y límite de detección del método propuesto para su posterior aplicación en el análisis de muestras.
- Aplicar el método desarrollado para la determinación y cuantificación de Nonilfenoles en el agua del DR-03 por el peligro que representan como potenciales agentes disruptores y por su valor potencial como indicador o trazador en el sistema de recarga del acuífero por el riego con agua residual.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

V. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1 Materiales y equipo

5.1.1 Reactivos y estándares

- Metanol, grado HPLC (J.T. Baker, Xalostoc, Edo. de Mex., México)
- Nonilfenol, mezcla de isómeros (CHEM SERVICE, West Chester, PA, USA)
- Alcohol Bencílico 100% puro (Sigma, St. Louis, MO, USA)
- Cloruro de sodio, reactivo ACS y Ácido clorhídrico 38% (J.T. Baker, Xalostoc, Edo. de Mex., México)
- Detergente Extran MA 03 (EM Science, Gibbstown, NJ, USA)

5.1.2 Material

- Fibra para MEFS con recubrimiento de Polidimetilsiloxano (PDMS, 100 μ m), Polidimetilsiloxano/ Divinilbenceno (PDMS-DVB, 65 μ m), Carbowax/ Divinilbenceno (CW-DVB, 65 μ m), Poliacrilato (PA, 85 μ m) (Supelco, Bellefonte, PA, USA).
- Frascos ámbar con tapa de baquelita y sello de silicón- teflón (70 mL)
- Barras magnéticas Spinbar: 25 x 8 mm (Scienceware, Bel -Art Products, Pequannock, NJ, USA)
- Parrilla de agitación y calentamiento MIRAKTM (Thermolyne, Dubuque, IA, USA)
- Balanza analítica H54 AR (Mettler, Zürich, Switzerland)

- Estufa 110°C (J.M. Ortega)

5.1.3 Instrumentación

- Cromatógrafo de gases HP 5890 acoplado a un detector de ionización de flama e inyector split/ splitless (Hewlett Packard, Avondale, USA)
 - ✓ Columna: CP SIL 8CB (5% fenil metilsilicón) de 30 m * 0.25 mm D.I., 0.25 µm de espesor de película (Chrompack, Middelburg, The Netherlands)
 - ✓ Registro y procesamiento de datos: TURBOCHROM (Perkin Elmer, PE Nelson División, San Jose, CA, USA)
- Cromatógrafo de gases HP 5890 acoplado a detector selectivo de masas HP 5971 (Hewlett Packard, Avondale, USA)
 - ✓ Columna Zebron ZB-5 (5% fenil metilsilicón) de 30 m * 0.25 mm D.I., 0.25 µm de espesor de película (Phenomenex, Torrance, CA, USA)
 - ✓ Registro y procesamiento de datos: CHEM DATA (Hewlett Packard).

5.2 Método

5.2.1 Elección del analito

El problema de contaminación del medio ambiente ha tomado nuevas vertientes a raíz del descubrimiento de especies animales con problemas de desarrollo o reproducción debido a alteraciones en su sistema endocrino por efecto de sustancias químicas. La

presencia de estos compuestos es considerable en el agua al ser empleada como medio para la eliminación de desechos industriales, entre otros.

Como se mencionó anteriormente, el Valle del Mezquital es una zona predominantemente agrícola y emplea para riego el agua residual sin tratamiento proveniente de la ZMCM, que a su vez ha provocado el desarrollo del acuífero de la región. La filtración del agua a través del suelo por el riego de los cultivos tiene un efecto purificador sobre el agua, sin embargo no es garantía de que se encuentre completamente libre de contaminantes, especialmente de carácter químico.

Ciertas sustancias que se encuentran en el agua residual pueden ser empleadas como indicadores en el sistema de recarga del acuífero y adquieren mucho mayor importancia si éstas poseen efecto disruptor. Tal es el caso de los Nonilfenoles los cuales a pesar de ser compuestos poco solubles en agua (solubles en benceno, disolventes clorados y alcoholes alifáticos), se han detectado de manera consistente en estudios previos realizados sobre el acuífero en concentraciones de 31 $\mu\text{g/L}$ [2] motivo por el cual, con base en la información derivada de este estudio, se busca el desarrollo de un método para determinarlos de manera cualitativa y cuantitativa.

5.2.2 Condiciones cromatográficas

Se estableció un programa de temperatura en las siguientes condiciones: temperatura inicial de 40 °C durante 4 minutos, rampa de temperatura de 10°C/ min, temperatura final 280 °C durante 10 minutos, con inyección en modo split. Con este programa se analizaron muestras del estándar de nonilfenoles (NF), para observar el perfil de estos compuestos y determinar el tiempo de retención. De esta forma, conociendo su comportamiento, se procedió al análisis por MEFS.

5.2.3 Preparación de muestra para microextracción en fase sólida.

Los experimentos realizados para optimizar las condiciones de extracción se llevaron a cabo en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama, empleando una solución de estándar de nonilfenoles en agua a una concentración de 20 $\mu\text{g/L}$. De esta solución se tomaron 50 mL y se colocaron en un frasco de vidrio ámbar de 70 mL de capacidad con tapa de rosca de baquelita y septum de silicón- teflón, sellados con cinta de teflón. El frasco con la solución se introdujo en un baño de agua a la temperatura en estudio, con una velocidad de agitación de 150 rpm durante cinco minutos después de los cuales se introdujo la fibra correspondiente para realizar la extracción. Terminado el tiempo, la fibra se desorbió en el inyector del cromatógrafo a una temperatura de 280 °C durante 15 minutos. El parámetro empleado para medir la respuesta del analito fue el área del pico, que en el caso de los nonilfenoles, al tratarse de un conjunto de isómeros que proporcionan un grupo de señales en el cromatógrafo, se consideraron siempre aquellas que proporcionaran una respuesta estable, incluidas en un mismo intervalo de tiempos de retención.

Se evaluaron diferentes tipos de fibras para seleccionar aquella que proporcionara una mejor extracción por inmersión directa, las cuales se acondicionaron previamente a 250°C (PDMS y CW/DVB), 260 °C (PDMS-DVB) y 300 °C (PA) durante el tiempo necesario para obtener un blanco. A su vez, se estudió el efecto de diferentes variables sobre la extracción:

- a) **Temperatura de extracción:** Se evaluó el efecto de tres diferentes temperaturas del baño de agua en el cual está inmersa la solución durante la extracción: temperatura ambiente (T.A.), 45 y 60°C. En la figura 6 se esquematiza el dispositivo ocupado para realizar las extracciones.
- b) **Condiciones de pH y fuerza iónica de la solución:** Se estudiaron diferentes condiciones de pH y presencia de sales en la solución estándar para evaluar su efecto en el proceso de extracción con fibra. Para el caso del pH, se trabajó en dos

diferentes condiciones: pH 5, empleando una solución de ácido clorhídrico al 1% para el ajuste de la solución y con solución estándar sin modificación en su pH. A su vez, se trabajó a diferente concentración de NaCl: 0% y 5% p/v.

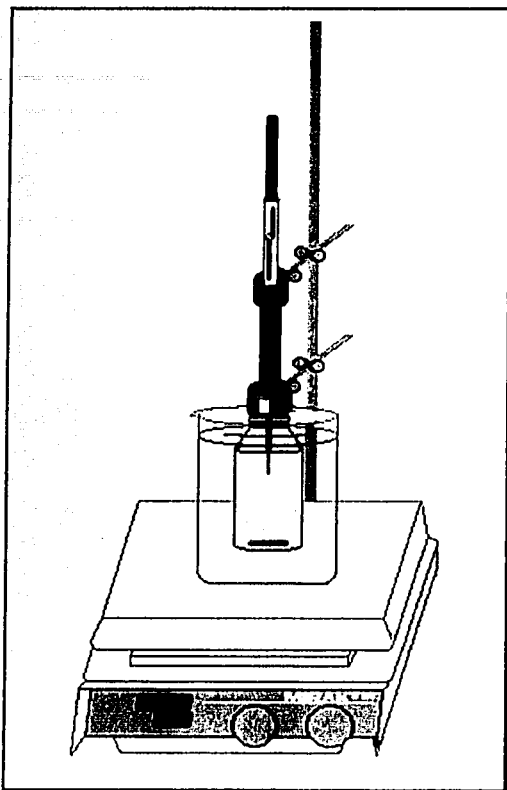


Figura 6. Esquema del sistema empleado para realizar el proceso de extracción por MEFS

- c) Tipo de fibra: Después de los estudios realizados sobre las características de la solución, se procedió a la evaluación de los diferentes recubrimientos en las condiciones establecidas como óptimas para la extracción: muestras simples

(sin modificación en su composición) a una temperatura de 45 °C. Los recubrimientos evaluados fueron: PDMS, PDMS-DVB, PA y CW-DVB.

- d) **Perfil de extracción:** Ya seleccionado el tipo de fibra a emplear, se determinó el perfil de tiempo de extracción de la siguiente forma: Se realizaron extracciones de la solución estándar durante 15, 30, 45 y 60 minutos (cada extracción por triplicado) y posteriormente se graficó la relación de áreas (Analito/ Std. Interno) en función de la relación de concentraciones.

5.2.4 Selección del estándar interno.

Se evaluaron diferentes compuestos para emplearlos como estándar interno⁹: Octadecanol, octanol y alcohol bencílico.

5.2.5 Determinación de la linealidad, repetibilidad y límite de detección del método.

Los análisis posteriores correspondientes a la evaluación de los parámetros de validación y al análisis de las muestras, se realizaron por CG-EM en modo de Monitoreo Selectivo de Iones (SIM). La selección de los iones se realizó con base en el espectro de fragmentación de masas obtenido por inyección en modo scan de soluciones de estándares de Nonilfenoles y Alcohol bencílico. El programa de temperatura empleado fue: temperatura inicial de 40 °C durante 4 minutos, rampa de temperatura de 20°C/ min,

⁹ En este caso, el empleo del estándar interno es con la finalidad de compensar los errores que pueden darse desde el proceso de preparación de muestra hasta la inyección de ésta en el cromatógrafo.

temperatura final 280 °C durante 10 minutos, con inyección en modo split (1 minuto), y temperatura en la línea de transferencia de 280 °C.

a) **Repetibilidad:** Se evaluó al analizar 50 mL de una solución estándar de Nonilfenoles (20 µg/L) adicionada de 40 µL de una solución del estándar interno (alcohol bencílico) a una concentración de 500 µg/L (concentración final de 0.416 µg/L) bajo las condiciones óptimas ya establecidas. Se hizo la determinación por sextuplicado y los datos se analizaron estadísticamente para obtener el coeficiente de variación (%).

b) **Linealidad:** De acuerdo a los datos reportados en el trabajo que precede [2], donde se encontraron Nonilfenoles a una concentración de 31 µg/L, se determinó la linealidad alrededor de este nivel: 10- 50 µg/L y a niveles inferiores desde 40 hasta 1000 ng/L.

Los análisis para la obtención de este parámetro se realizaron en tres partes, dividiendo en tres intervalos de concentración: 40- 200 ng/L, 200- 1000 ng/L (0.2- 1.0 µg/L) y 10- 50 µg/L. Cada intervalo se trabajó bajo las mismas condiciones y se analizó estadísticamente por regresión lineal.

c) **Límite de detección:** Se calculó considerándolo como la señal del blanco más tres veces la desviación estándar:

$$LD = a + 3\sigma$$

5.2.6 Análisis de muestras provenientes del Acuífero del Valle del Mezquital. Aplicación del método.

Ya establecidas las condiciones del método, se procedió al análisis de muestras obtenidas de dos manantiales localizados dentro del Distrito de Riego 03, específicamente en los poblados de Tezontepec de Aldama y Cerro Colorado.

5.2.6.1 Muestreo

De los dos puntos anteriores se realizó un sólo muestreo el día 2 de julio del 2002. Se tomaron muestras por triplicado (1 L), sumergiendo cada frasco⁹ en el agua. Una vez lleno, dentro del agua, se cerró el frasco con aluminio y con su tapa, para evitar que entraran burbujas de aire. Cada recipiente fue etiquetado e introducido en una bolsa de plástico y colocado en recipientes con hielo para su transportación hasta el laboratorio, donde se colocó en refrigeración hasta el momento de su análisis.

Para tener un control de las muestras, se trabajó con tres tipos de blanco: de laboratorio, de travesía y de campo, empleando para todos ellos agua previamente analizada, libre de nonilfenoles. El primero de ellos, se preparó en el laboratorio y permaneció en refrigeración hasta el momento de su análisis. El blanco de travesía se preparó en el laboratorio y fue transportado al campo junto con los demás recipientes para toma de muestra y regresado junto con la muestras colectadas. El blanco de campo se tomó antes que las muestras en cada punto seleccionado. Se emplearon frascos con las mismas características que los utilizados para las muestras.

El lavado del material empleado en el muestreo se realizó de la siguiente forma:

- ✓ Tallado con solución jabonosa caliente de EXTRAN,
- ✓ Enjuague con agua hasta que no exista formación de espuma,
- ✓ Secado en estufa a 105 °C por 60 minutos
- ✓ Una vez fríos, se taparon con aluminio y tapa de polipropileno.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.2.6.2. Análisis y cuantificación de muestras

La preparación de las muestras para su análisis se realizó conforme a los parámetros para Microextracción en Fase Sólida establecidos previamente. En primer lugar, se

⁹ Para el muestreo se emplearon frascos de vidrio ámbar de 1 litro de capacidad con tapa de polipropileno.

corrieron los cromatogramas para los blancos con la finalidad de asegurar que los resultados obtenidos correspondieran a las muestras en estudio. Posteriormente se hizo el análisis del agua de los manantiales para determinar la presencia de nonilfenoles.

Una vez que se comprobó su identidad y considerando que la respuesta obtenida correspondía a una concentración cercana a los 100 ng/L, se procedió a un nuevo análisis de las muestras y a su cuantificación, construyendo una curva de calibración desde 40 hasta 200 ng/L. Graficando la relación de áreas vs. la relación de concentraciones (con respecto al estándar interno), se hizo un análisis de regresión y posteriormente se calculó la concentración de nonilfenoles presente en las muestras provenientes del DR-03.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1 Desarrollo del método

Con el programa de temperatura propuesto, se hicieron inyecciones de la solución estándar de Nonilfenoles (NF), con la finalidad de conocer el perfil de elución y su tiempo de retención. El cromatograma obtenido se muestra en la figura 7.

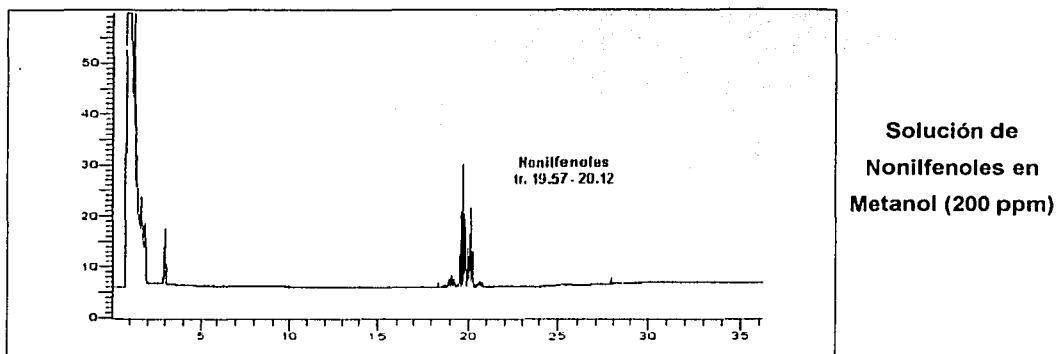


Figura 7. Cromatogramas de los analitos en estudio bajo las siguientes condiciones: temperatura inicial de 40 °C durante 4 minutos, rampa de temperatura de 10°C/ min, temperatura final 280 °C durante 10 minutos, con inyección en modo split.

El estándar de Nonilfenoles se presenta comercialmente como una mezcla de isómeros, por lo que el cromatograma muestra un conjunto de señales que aparece entre los 19.5 y 20.1 minutos. Antes y después de este tiempo se observan picos más pequeños que no serán considerados, ya que por su tamaño pueden introducir error en las mediciones al confundirse con el ruido de fondo.

Una vez conocido el tiempo de retención del analito, se procedió al estudio de los principales parámetros que influyen en el proceso de extracción por MEFS: temperatura de extracción, tiempo de extracción, pH, presencia de sales en la solución, así como el tipo de recubrimiento de fibra a utilizar [42], los cuales se discuten a continuación.

6.1.1 Evaluación de los parámetros que afectan el proceso de microextracción en fase sólida.

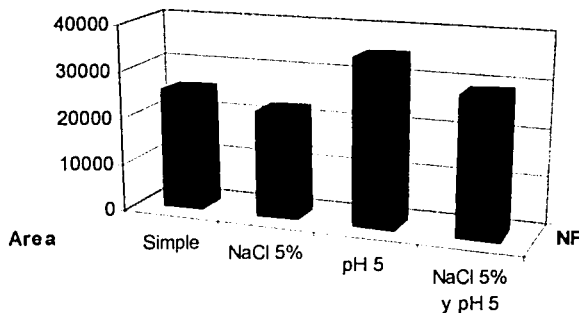
En la optimización de las condiciones de extracción se trabajó con una solución estándar de Nonilfenoles a una concentración de 20 µg/L en las condiciones descritas en el desarrollo experimental.

6.1.1.1 pH y presencia de sales en la solución

Con base en los parámetros trabajados en el estudio precedente [2], se trabajó bajo diferentes condiciones de pH y concentración de NaCl en la solución estándar. Los valores evaluados fueron pH 5 y 7, ajustando con una solución de ácido clorhídrico al 1%, y las concentraciones de NaCl en estudio fueron de 0% y 5% p/v. Cada una de estas determinaciones se realizaron con tres fibras diferentes: PDMS, PDMS-DVB y PA. Los valores de pH de las soluciones estándar de nonilfenoles sobre las que se realizaron las determinaciones de los parámetros oscilan entre 7.1 y 7.5 de manera que cuando se menciona un pH de trabajo de 7, corresponde a ésta solución sin modificación en sus propiedades.

Es importante destacar que el pH de las muestras provenientes del Valle del Mezquital es muy semejante al de la solución de prueba. No sucede lo mismo con la concentración salina sin embargo, las condiciones de trabajo establecidas permiten hacer la estimación del comportamiento de las mismas. Este punto se discute con mayor profundidad en el apartado 6.1.3.2 (Análisis y cuantificación de muestras).

La figura 8 muestra gráficamente la respuesta obtenida del análisis de la solución estándar sola, a pH 5, al 5% con NaCl y con variación de ambas condiciones (pH 5 y NaCl al 5%) con la fibra de PA. También se presenta una tabla donde se muestra la respuesta en área obtenida en cada determinación.



	Respuesta (área)			
	Sol. Estándar (pH 7, NaCl 0%)	pH 7, NaCl 5%	pH 5, NaCl 0%	NaCl 5%, pH 5
Nonilfenoles	25321	22448	35057	29106

Figura 8. Respuesta en área obtenidos en un solo análisis por MEFS (PA) de una solución de NF (20 ppb) a diferentes concentraciones de sal y diferentes valores de pH

Como se puede observar, la modificación en la fuerza iónica de la solución no ejerce influencia significativa en la extracción con fibra en cambio, la disminución del pH de la solución aumenta la cantidad de analito extraída. El nonilfenol al ser una molécula de

carácter ácido, no se encuentra disociado, y cabría esperar que el efecto favorable a la extracción se diera por la disminución en su solubilidad, y el consiguiente aumento en la afinidad por la fase orgánica de la fibra. Sin embargo, por su valor de pKa (aproximado a 10.3), la modificación en el pH del medio no afecta sobre las propiedades del analito, sino que tiene un efecto sobre las propiedades de la fase que requerirían de un estudio más extensivo para explicarse con detalle.

Para las fibras de PDMS y PDMS-DVB, la variación en la respuesta con las modificaciones realizadas sobre la composición de la solución no fue tan notable como la mostrada en la fibra de Poliacrilato y se observó que en el caso del recubrimiento de Polidimetilsiloxano-Divinilbenceno, conforme se hacían más análisis con una misma fibra, en los cromatogramas aparecían señales cada vez más intensas de compuestos pertenecientes a una serie hidrocarbonada. Con base a lo reportado en la literatura se encontró el inconveniente de que las condiciones ácidas del medio disminuyen el tiempo de vida de ésta fibra por degradación de la fase [45].

Además del problema que se presenta por la estabilidad del recubrimiento de PDMS-DVB en medio ácido, la modificación en la fuerza iónica también tiene ciertas desventajas, pues cuando se modifica la concentración de sales en la solución, no sólo se afecta la solubilidad del analito de interés sino también la de otros compuestos orgánicos presentes, aumentando la cantidad de picos en los cromatogramas, que pueden llegar a interferir en la determinación.

Con base en lo anterior se concluyó que a pesar del mejoramiento en la extracción provocado por la influencia del pH, la respuesta en la extracción a la solución acuosa sin adición de sal o modificación de pH es suficientemente buena para realizar los análisis.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.1.1.2 Temperatura de extracción

Se evaluó el efecto de tres diferentes temperaturas de extracción: temperatura ambiente (T.A.), 45 y 60° C.

Los primeros experimentos se realizaron con la fibra de Polidimetilsiloxano a una temperatura de 60° C. Se observó que la respuesta obtenida era menos reproducible, lo que fue un factor determinante para poner a prueba temperaturas de extracción menores. De esta forma, los análisis posteriores con esta fibra y con las de PDMS-DVB y PA (cuyos resultados se muestran en la figura 9) se realizaron a 45° C y a temperatura ambiente.

Comparando la respuesta a temperatura ambiente y a 45° C entre las tres fibras, se observó que una mayor temperatura de extracción favorece el reparto del analito entre la solución y la fibra porque permite la rápida liberación de éste de la matriz de la solución sin desplazar el equilibrio hacia la fase vapor.

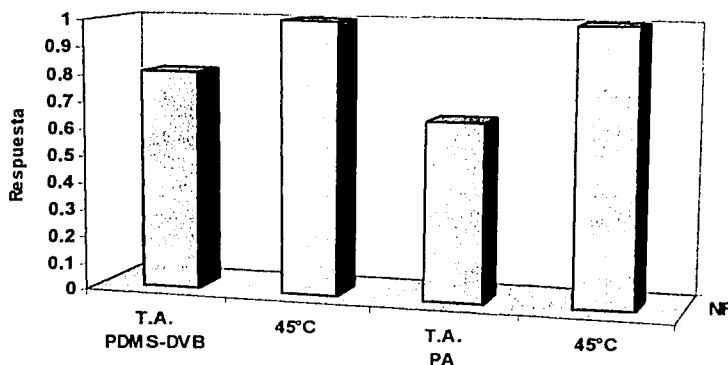


Figura 9. Respuesta en área obtenidas en análisis por MEFS de una solución de NF (20 ppb) a diferentes temperaturas

6.1.1.3 Tipo de fibra

Después de los estudios realizados sobre la composición de la solución y la temperatura de extracción, se procedió a la evaluación de los diferentes recubrimientos en las condiciones establecidas como óptimas para el proceso: solución estándar (sin modificación en su composición) a una temperatura de 45° C.

Los cromatogramas que se presentan en la figura 10 corresponden a las evaluaciones realizadas con las fibras de PDMS, PDMS-DVB y PA. La tabla incluye la respuesta en área para dichos cromatogramas. Como se observa, las fibras de PDMS-DVB y PA presentan mejores extracciones. Los Nonilfenoles al tratarse de compuestos polares, presentan mayor afinidad por la fibra polar (PA) sin embargo, la presencia de la cadena hidrocarbonada en su estructura, le confieren cierto carácter apolar que también los hace afines al recubrimiento de PDMS-DVB que es de polaridad intermedia.

Debe apreciarse que a pesar de trabajar con agua pura, la fibra de Polidimetilsiloxano-Divinilbenceno extrae de la matriz de la solución una cierta cantidad de compuestos desconocidos en comparación con la fibra de Poliacrilato y que al parecer pueden interferir con la determinación de los Nonilfenoles. No obstante, este tipo de interferencias se pueden eliminar al realizar el análisis por CG-EM por monitoreo selectivo de iones (SIM), de manera que se realizaron nuevas determinaciones ocupando ahora un cromatógrafo de gases HP 5890 acoplado a detector selectivo de masas HP 5971, con una columna 5% fenil metilsilicón de las mismas características que la anterior.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

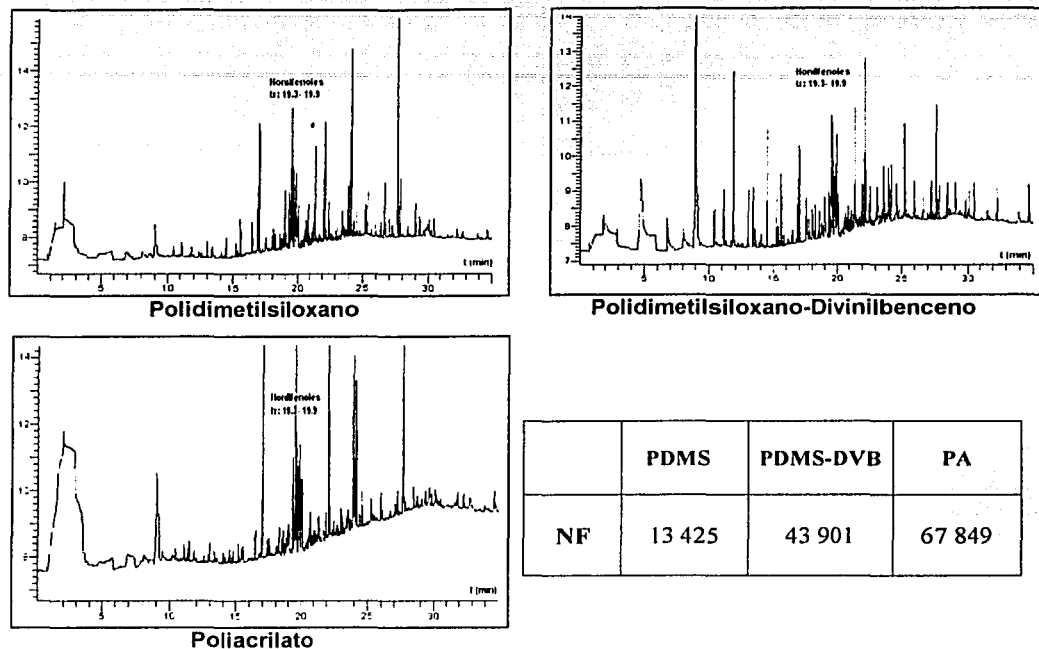


Figura 10. Cromatogramas y respuesta en área obtenidos a partir de la MEFS de una solución de NF (20 ppb) con diferentes tipos de fibra

Los resultados de la figura 11 muestran que la mejor extracción se obtuvo con las fibras de PA y PDMS-DVB además de que el análisis por SIM para los iones m/z 107, 121, 135 y 220 (la selección de los iones se detalla en el punto 5.1.2.1), permite eliminar parte de las interferencias que se observaban en el análisis con detector de ionización de flama, como se observa en los cromatogramas de la figura 12 donde se muestran los análisis realizados con la fibra de PDMS-DVB, en CG-FID y CG-EM. En CG-FID, los nonilfenoles se observan a un intervalo de 19.3- 19.5 min, mientras que en CG-EM, se observan cerca de los 14 minutos. La diferencia en los tiempos de retención es debido a los programas de temperatura empleados. En el punto 5.1.2.2 se exponen los cambios realizados.

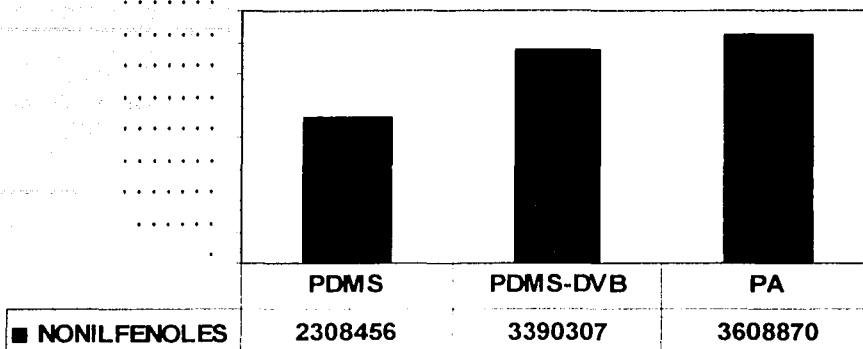


Figura 11. Respuesta en área obtenida al evaluar diferentes tipos de fibras para la MEFS-CG-EM de una solución de NF (20 ppb)

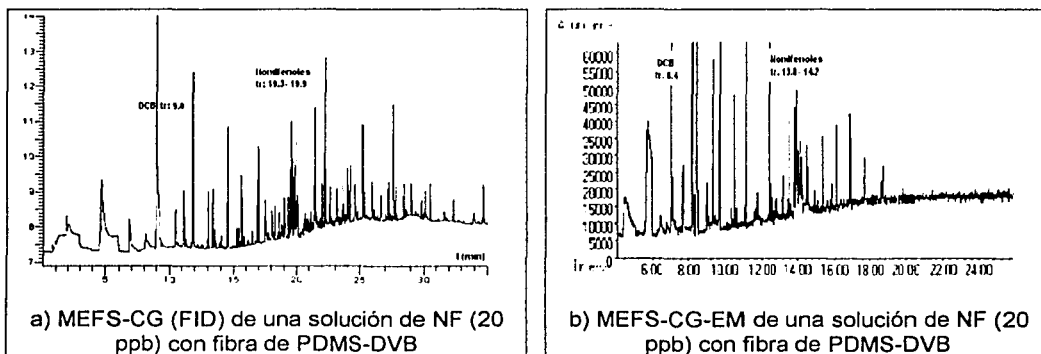


Figura 12. Cromatogramas obtenidos del análisis de NF (20 ppb) por: a) MEFS-CG-FID, b) MEFS-CG-EM (características de las columnas descritas en la página 39)

Finalmente se realizaron nuevas determinaciones, pero empleando fibras de PA, PDMS-DVB y Carbowax- Divinilbenceno (CW-DVB) que es un recubrimiento de carácter

polar. La extracción proporcionó resultados más satisfactorios con las fibras de PA y PDMS-DVB en comparación con la fibra de CW-DVB.

De esta forma, se observó que las fibras más apropiadas para realizar la extracción son la de Polidimetilsiloxano- Divinilbenceno y la de Poliacrilato por lo que se procedió a la determinación del tiempo de extracción para ambas.

6.1.1.4 Tiempo de extracción

La microextracción en fase sólida se considera que es completa cuando el analito ha alcanzado el equilibrio de distribución entre la matriz de la muestra y el recubrimiento de la fibra, lo que significa que se ha alcanzado un tiempo después del cual la cantidad de analito extraída permanece constante. Con el fin de conocer este parámetro, se construyó el perfil de tiempo de exposición para la fibra de PDMS-DVB y PA. Las gráficas de la figura 13 muestran los resultados obtenidos.

Como se observa, a los 60 minutos de extracción no se alcanza el equilibrio del proceso. Cuando se presenta este tipo de circunstancias donde el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio es muy largo, se tiene que establecer un tiempo de extracción menor, teniendo un control estricto sobre las condiciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

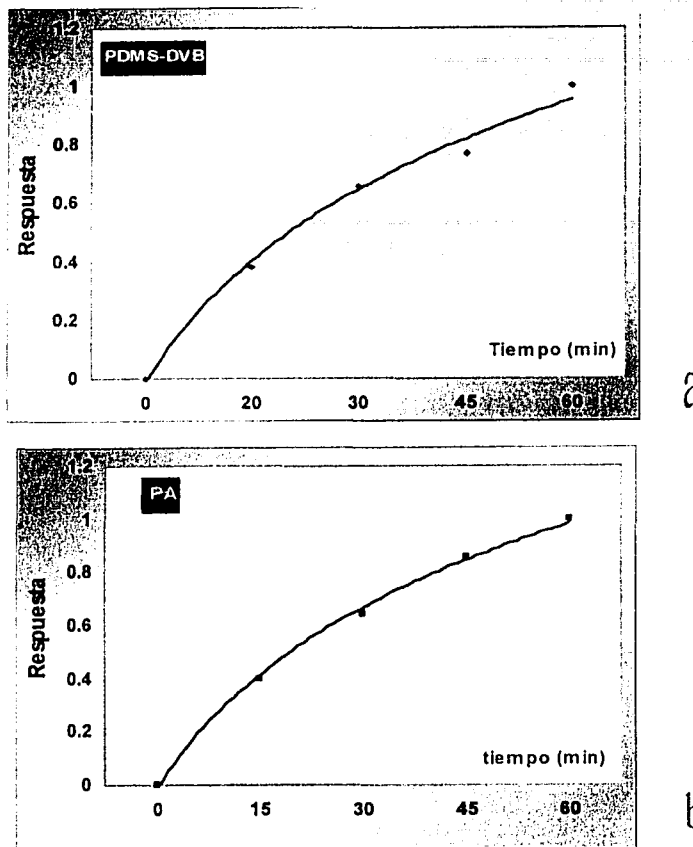


Figura 13. Perfil de tiempo de extracción correspondiente a los Nonilfenoles. MEFS con fibra de a) Polidimetilsiloxano- Divinilbenceno, b) Poliacrilato

Con base en lo anterior, se estableció un tiempo de extracción de 30 minutos bajo condiciones controladas. Las gráficas presentadas se construyeron con base en la respuesta del analito con relación al estándar interno seleccionado, de manera que los posteriores estudios involucren el empleo del alcohol bencílico con los fines que se exponen a detalle en el siguiente punto.

La determinación de este último parámetro no fue útil para hacer la selección entre ambos recubrimientos, por lo que se procedió a realizar el análisis de repetibilidad de la extracción con fibra.

De esta forma, después de la evaluación de los factores que influyen en el proceso de extracción por MEFS, las condiciones óptimas establecidas para realizar la extracción son:

- ✓ Análisis de soluciones sin modificar la fuerza iónica ni el pH.
- ✓ Extracciones por inmersión directa a una temperatura de 45° C.
- ✓ MEFS con recubrimiento de PDMS-DVB o PA.

6.1.2 Evaluación de los parámetros de repetibilidad, linealidad y límite de detección del método.

Una parte integral del desarrollo de un método es la determinación de su validez con base en parámetros como la precisión y la linealidad que a su vez determinan la confiabilidad de la cuantificación de los analitos. El estudio de dichos parámetros para el método en desarrollo se realizó por CG-EM en modo de Monitoreo Selectivo de Iones (SIM), ya que mejora considerablemente la capacidad de detectar concentraciones bajas (del orden de ng/L), al eliminar las interferencias por otros compuestos presentes en la muestra y hacer más selectiva la búsqueda del analito de interés.

La contaminación por nonilfenoles encontrada en el acuífero del DR-03 es en el orden de $\mu\text{g/L}$ motivo por el cual, la evaluación de los parámetros antes mencionados debe realizarse en estos niveles o inclusive, concentraciones menores que harán más significativa la influencia de los errores aleatorios del método. Una forma de tener un control para compensar y/o al menos conocer estos posibles errores, es mediante el empleo de un estándar interno.

6.1.2.1 Selección de Iones para el modo SIM

Se realizó el análisis de los estándares en modo SCAN para determinar los iones a emplear en el modo de Monitoreo Selectivo de Iones. La figura 14 muestra el espectro de masas (Impacto electrónico, I.E.) obtenido de la inyección de una solución de Alcohol bencílico en Metanol (520 $\mu\text{g/mL}$).

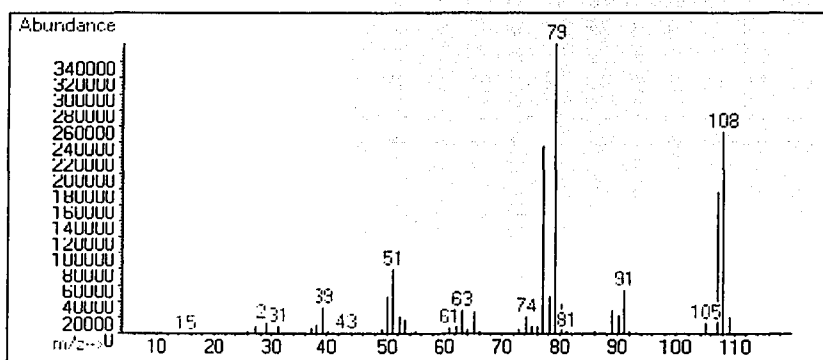
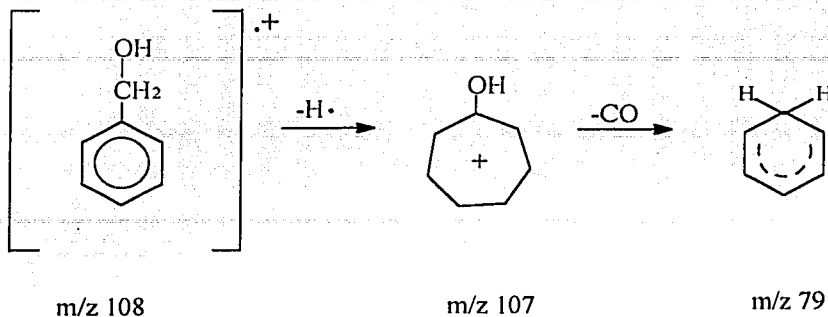


Figura 14. MEFS-CG-EM de una solución de A. Bencílico (520 $\mu\text{g/L}$)
(características de la columna descritas en el desarrollo experimental)

De esta forma se seleccionaron los iones de mayor abundancia, algunos de los cuales se describen a continuación.

El ión m/z 108 con una abundancia de 69%, corresponde al ión molecular del alcohol bencílico. Los siguientes de mayor abundancia son m/z 91 (15%), originado por la pérdida del grupo $-\text{OH}$ de la molécula y el pico base m/z 79 que es un fragmento derivado de la ruptura de la molécula de acuerdo al siguiente esquema:



Esquema 1. Fragmentación del Alcohol bencílico por impacto electrónico

El espectro de masas (I.E.) de la figura 15 se obtuvo del análisis de una solución de Nonilfenoles en Metanol (200 $\mu\text{g/mL}$). El patrón de fragmentación para dicho compuesto se muestra en el esquema 2.

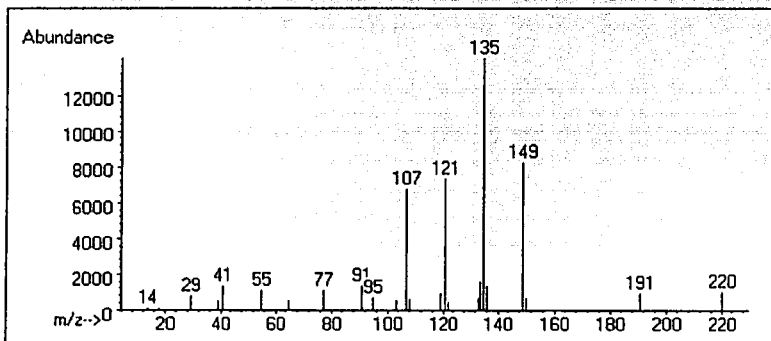
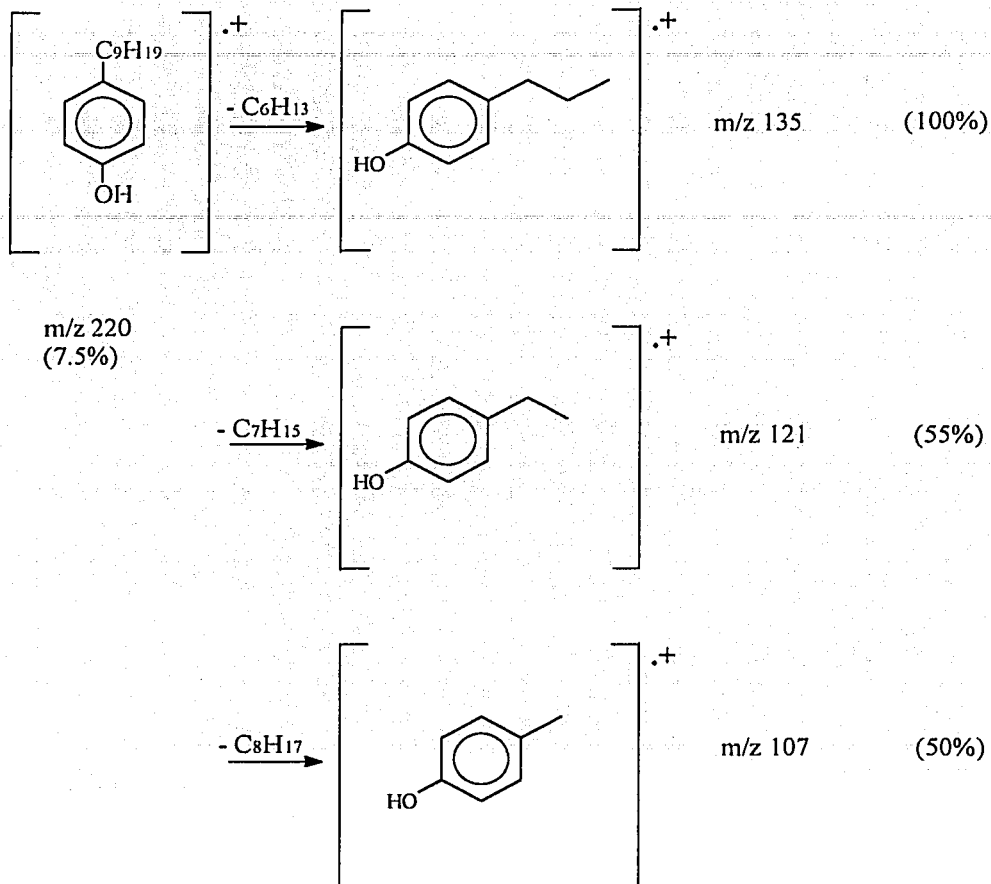


Figura 15. MEFS-CG-EM de una solución de Nonilfenoles (200 $\mu\text{g/mL}$) (características de la columna descritas en el desarrollo experimental)



Esquema 2. Posible fragmentación de los Nonilfenoles por impacto electrónico de acuerdo al EM de la figura 14.

Los alquilfenoles producen un ión molecular, que en este caso para el Nonilfenol es el ión de m/z 220, seguido por la fragmentación de la cadena de carbonos. Es importante destacar que los iones seleccionados para el análisis de Nonilfenoles no incluyen el ión m/z 149, debido a que los ftalatos, que generalmente encontramos como contaminación en las columnas, presentan una fragmentación que proporciona iones de m/z del mismo valor.

6.1.2.2 Selección del estándar interno

Se trabajó con una modificación en el programa de temperatura, al cambiar la rampa de 20°C/min a 10°C/min. Esta modificación no afectó la resolución de los picos de los Nonilfenoles y sin embargo, se hace un ahorro en tiempo y en el uso de Helio que se está empleando como gas acarreador. El cromatograma de la figura 16 corresponde a un análisis de NF a una concentración de 200 ng/L con dicho programa de temperatura.

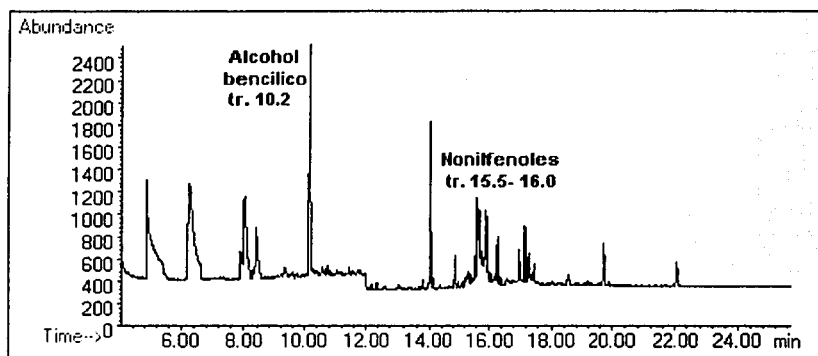


Figura 16. MEFS-CG-EM de una solución de Nonilfenoles (200 ng/L)

Como se mencionó en el punto 5.1.2, con la adición del estándar interno se buscó compensar y conocer los posibles errores acumulados desde el proceso de preparación de muestra. Es sabido que el estándar interno a emplear debe tener la propiedad de no interferir con los constituyentes de la muestra, de manera que simultáneamente a la selección de la fibra se realizó la búsqueda del estándar interno entre tres posibles compuestos: octadecanol, octanol y alcohol bencílico, a una concentración tal que su respuesta en área fuera semejante a la del pico mayoritario del grupo de señales de los nonilfenoles.

6.1.2.3 Repetibilidad del método.

La repetibilidad del método, definida como el grado de concordancia entre determinaciones independientes de soluciones con una concentración conocida [46-47], se evaluó analizando soluciones de nonilfenoles, adicionadas de un volumen determinado de estándar interno bajo las condiciones establecidas (tabla VII).

Las primeras pruebas se realizaron por MEFS-CG (FID) con una solución estándar de octadecanol a una concentración final de 20 µg/L en 50 mL de solución estándar de nonilfenoles (20 µg/L). De los resultados obtenidos se determinó la desviación estándar y el % C.V., obteniéndose un 4.7% con la fibra de PDMS-DVB y 9.8% con la fibra de Poliacrilato. Análisis posteriores con este mismo estándar presentaron problemas de solubilidad del compuesto, por lo que se comenzó la evaluación del octanol. Nuevamente la fibra de PDMS-DVB presenta un mejor coeficiente de variación (3.0%) comparado con el obtenido por extracción con la fibra de PA (15.2%). Al analizar esta solución por CG-EM, se encontró que el blanco presentaba señales en el mismo tiempo de retención del octanol.

TABLA VII. Respuesta (A_{NF}/A_{AB}) obtenida por MEFS-CG (FID) para la selección del estándar interno

	OCTANOL		OCTADECANOL		ALCOHOL BENCÍLICO
	PDMS-DVB	PA	PDMS-DVB	PA	PDMS-DVB
1	9.17	4.49	11.26	9.58	7.75
2	9.79	4.90	10.51	9.51	6.84
3	9.22	3.17	11.70	8.82	7.61
4	9.76	4.54	11.48	10.69	7.48
5	9.67	3.70	10.62	11.61	7.06
σ	0.29	0.64	0.52	0.99	0.38
C.V. (%)	3.00	15.23	4.68	9.83	5.22

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

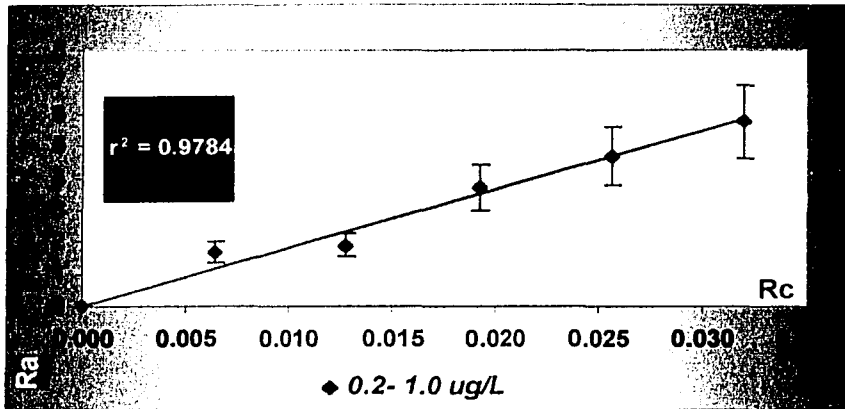
Como se observó en resultados anteriores, los coeficientes de variación derivados de las pruebas con la fibra de PDMS-DVB fueron significativamente mejores que con la fibra de PA, por este motivo, la evaluación del alcohol bencílico sólo se realizó con la fibra de mediana polaridad con la cual se obtuvo un coeficiente de variación de 5.22%. Este fue uno de los factores determinantes para la selección de la fibra de Polidimetilsiloxano-Divinilbenceno, además de que en la práctica, el tiempo de vida de la fibra de Poliacrilato es menor.

6.1.2.4 Linealidad del método.

De acuerdo a los datos reportados en el trabajo previo [2], la concentración de nonilfenoles en el agua del acuífero es de aproximadamente 31 $\mu\text{g/L}$, por lo que el primer intervalo de linealidad que se estudió fue de 10 a 50 $\mu\text{g/L}$, empleando una concentración de AB de 416 $\mu\text{g/L}$. Considerando que la concentración de NF en agua podría ser menor, también se evaluó el intervalo de 200 a 1000 ng/L (AB a 31 $\mu\text{g/L}$) (figura 17).

Las curvas se obtuvieron graficando la relación de concentraciones ($R_c = \text{Conc}_{\text{NF}} / \text{Conc}_{\text{AB}}$) contra la relación de áreas ($R_a = \text{Área}_{\text{NF}} / \text{Área}_{\text{AB}}$). Cada intervalo de concentración se evaluó por triplicado, obteniéndose un coeficiente de variación máximo de 20.7%, al que pueden atribuirse los bajos valores obtenidos para los coeficientes de determinación sin embargo, con las ecuaciones puede hacerse una estimación de la concentración de nonilfenoles presentes en muestras reales.

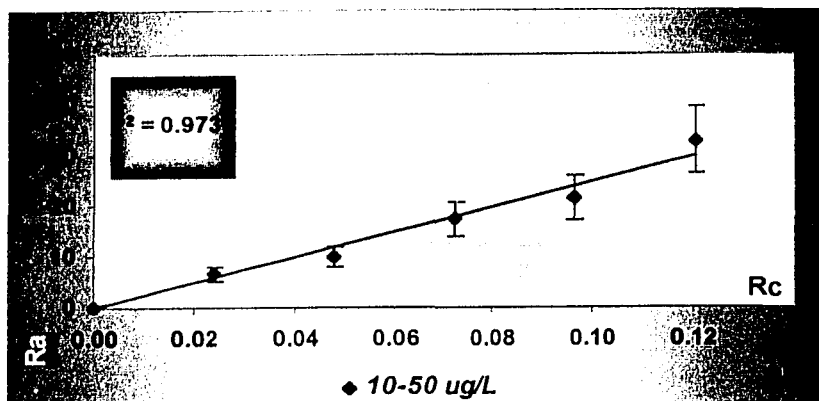
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



[NF] µg/L	Alc. Bencílico (Área)	Nonilfenol (Área)	Ra	Rc
0	0	0	0	0.000
0.2	73801	124388	1.69	0.006
0.4	71398	136650	1.91	0.013
0.6	63446	235044	3.70	0.019
0.8	66647	312327	4.69	0.026
1	71750	413309	5.76	0.032

Figura 17. Curva de linealidad para nonilfenoles de 0.2- 1.0 µg/L y 10- 50 µg/L empleando fibra de PDMS-DVB

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



[NF] µg/L	Alc. Bencílico (Área)	Nonilfenol (Área)	Ra	Rc
0	0	0	0.00	0.00
10	685665	4571316	6.67	0.02
20	684057	6911031	10.10	0.05
30	680460	11845263	17.41	0.07
40	643055	13918939	21.65	0.10
50	667200	21915783	32.85	0.12

Figura 17. Continuación

6.1.2.5 Límite de detección del método.

Existen varias definiciones y métodos descritos en la literatura para determinar el límite de detección. Una de las más aceptadas se basa en el cálculo de la desviación estándar de varias determinaciones de una solución de baja concentración. Así el límite de detección (y) es la cantidad de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco y_B , más tres veces la desviación estándar del blanco, s_B [42, 48], de acuerdo con la fórmula:

$$y - y_B = 3s_B$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los datos necesarios se obtuvieron al construir una curva en el intervalo de 40 a 200 ng/L¹⁰. El límite de detección se calculó de acuerdo a las fórmulas que se indican en la tabla VIII, obteniéndose un cálculo de 70 ng/L.

Tabla VIII. Fórmulas empleadas para el cálculo del límite de detección del método

Ordenada al origen	Desviación estándar del blanco
y_B	S_B
$y_B = a$ (ordenada al origen)	$S_{xy} = S_{xy}$ $S_{xy} = \{S_i (y_i - y^{\wedge}_i)^2 / (n - 2)\}^{1/2}$ donde: y^{\wedge}_i punto de regresión sobre la recta calculada y_i puntos experimentales n número de puntos de la recta ($n = 5$)
$y_B = a = 0.3653$	$S_{xy} = 0.3512$

Cálculo del límite de detección (y)	
$y = 3S_B + y_B$ $y = 3(0.3512) + 0.3653$ $y = 1.4189$ (Ra)	Considerando que los valores de la gráfica corresponden a relación de áreas (Ra) y relación de concentraciones (Rc), de acuerdo a la curva: $x = (y - a)/b$ $x = (1.4189 - 0.3653) / 458.3400 = 0.0023$ (Rc) Si: C_{NF} es la concentración de Nonilfenoles y C_{SI} es la concentración del estándar interno (29.12 µg/L) $C_{NF} = Rc * C_{SI}$ $C_{NF} = 0.0023 * 29.12 = 0.0669$ µg/L $LD = 66.9$ ng/L (ppt)

¹⁰ La ecuación [$x = (y-a)/b$] obtenida para dicha gráfica es: $x = (1.4189 - 0.3653) / 458.3400$.

A pesar de que estadísticamente, el límite de detección se determinó en 70 ng/L, ensayos posteriores realizados han demostrado que se pueden llegar a detectar concentraciones de 40 ng/L. El cálculo estadístico implica considerar además del ruido de fondo, la acumulación de errores aleatorios durante todo el proceso de análisis de muestras. Es por este motivo que se tomó en cuenta otra definición para un nuevo cálculo del límite de detección que consiste en una concentración tal que de una señal dos veces mayor a la señal del ruido.

De esta forma, tomando como base un cromatograma de NF a 200 ng/L (figura 18A y 18B), se examinó una parte de la señal del ruido (18B) y considerando la respuesta en esta zona, se calculó un LD correspondiente a dos veces esa señal, obteniendo una concentración aproximada de 30 ng/L

Después de la evaluación estadística de la confiabilidad del método y del cálculo del límite de detección, se procedió a su aplicación para el análisis de muestras provenientes del acuífero del Valle del Mezquital, localizado en el Estado de Hidalgo.

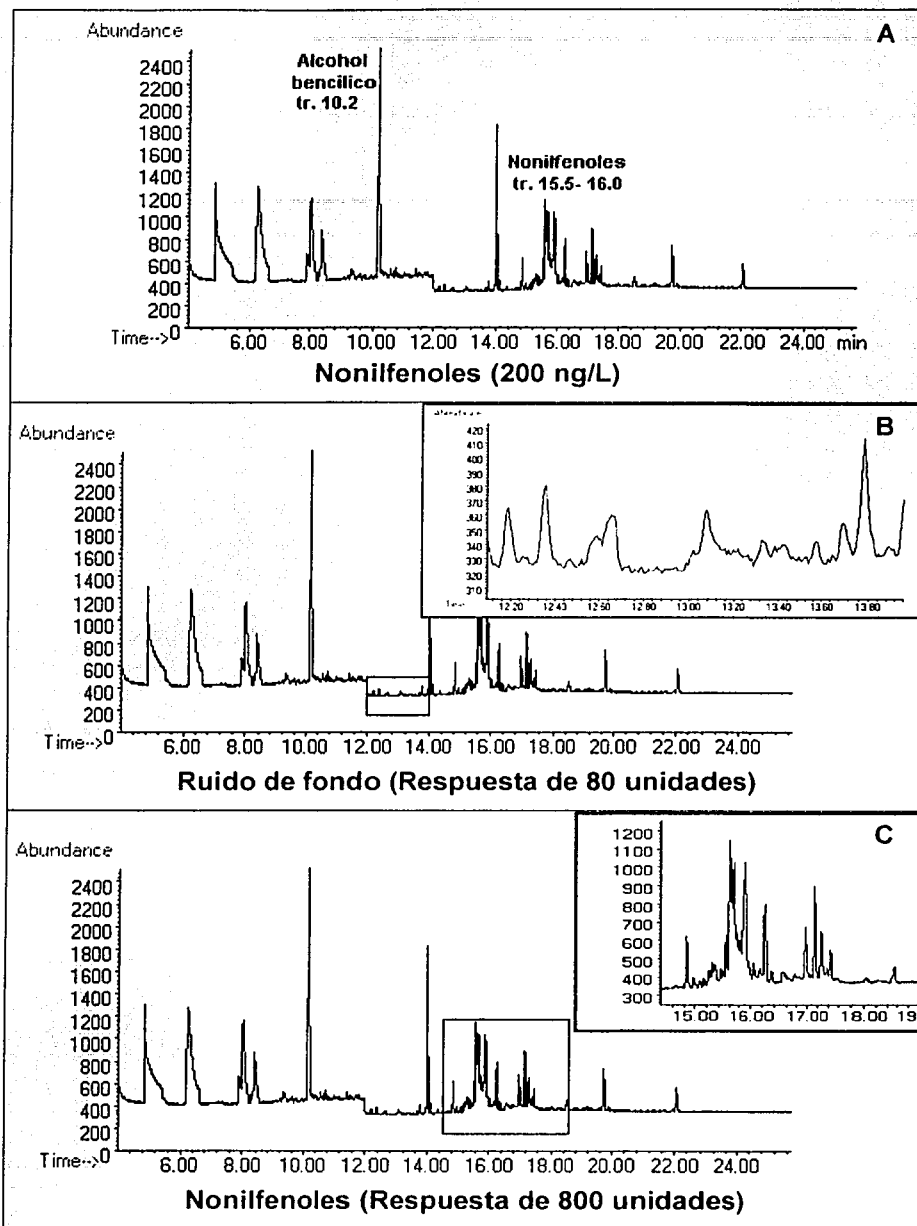


Figura 18. Comparación de la respuesta del analito y la señal del ruido para el cálculo del límite de detección

6.1.3 Análisis de muestras del Acuífero del Valle del Mezquital.

Se realizó el muestreo en dos manantiales localizados en el poblado de Tezontepec de Aldama y Cerro Colorado.

6.1.3.1 Muestreo.

El muestreo se realizó el día 2 de julio del 2002 en el manantial localizado en el poblado de Tezontepec de Aldama (cuya imagen se muestra en la figura 19), y en el manantial ubicado en Cerro Colorado (figura 20) como se explicó en la parte de desarrollo experimental.



Figura 19. Manantial "El Piedhe", localizado en el poblado de Tezontepec de Aldama, Hgo.

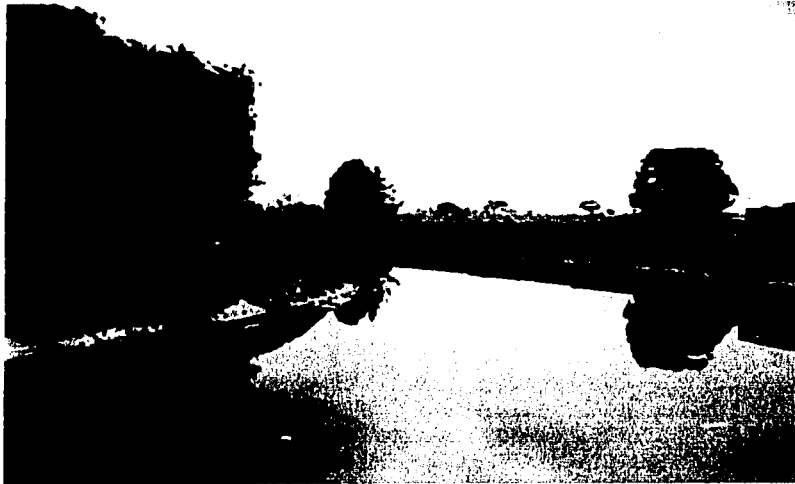


Figura 20. Manantial localizado en el poblado de Cerro Colorado, Hgo.

6.1.3.2 Análisis y cuantificación de muestras.

Primeramente se realizó el análisis de los blancos para detectar cualquier problema de contaminación ocurrido hasta el muestreo. Los resultados obtenidos demostraron que no existió contaminación durante esta etapa, de manera que se prosiguió con el análisis de las muestras sin adición del estándar interno, con el fin de observar las señales exclusivas a la composición de la muestra.

El análisis del agua obtenida del manantial de Tezontepec de Aldama no mostró evidencia alguna de contaminación por Nonilfenoles. En cambio, los cromatogramas resultantes del análisis de las muestras del manantial de Cerro Colorado mostraron una serie de picos con tiempos de retención entre 15.5 y 16 minutos. Los resultados del análisis se presentan en la figura 21, así como un cromatograma perteneciente a un blanco, que a pesar de tener señales en este intervalo, sus espectros de masas no corresponden a la relación de abundancia de iones.

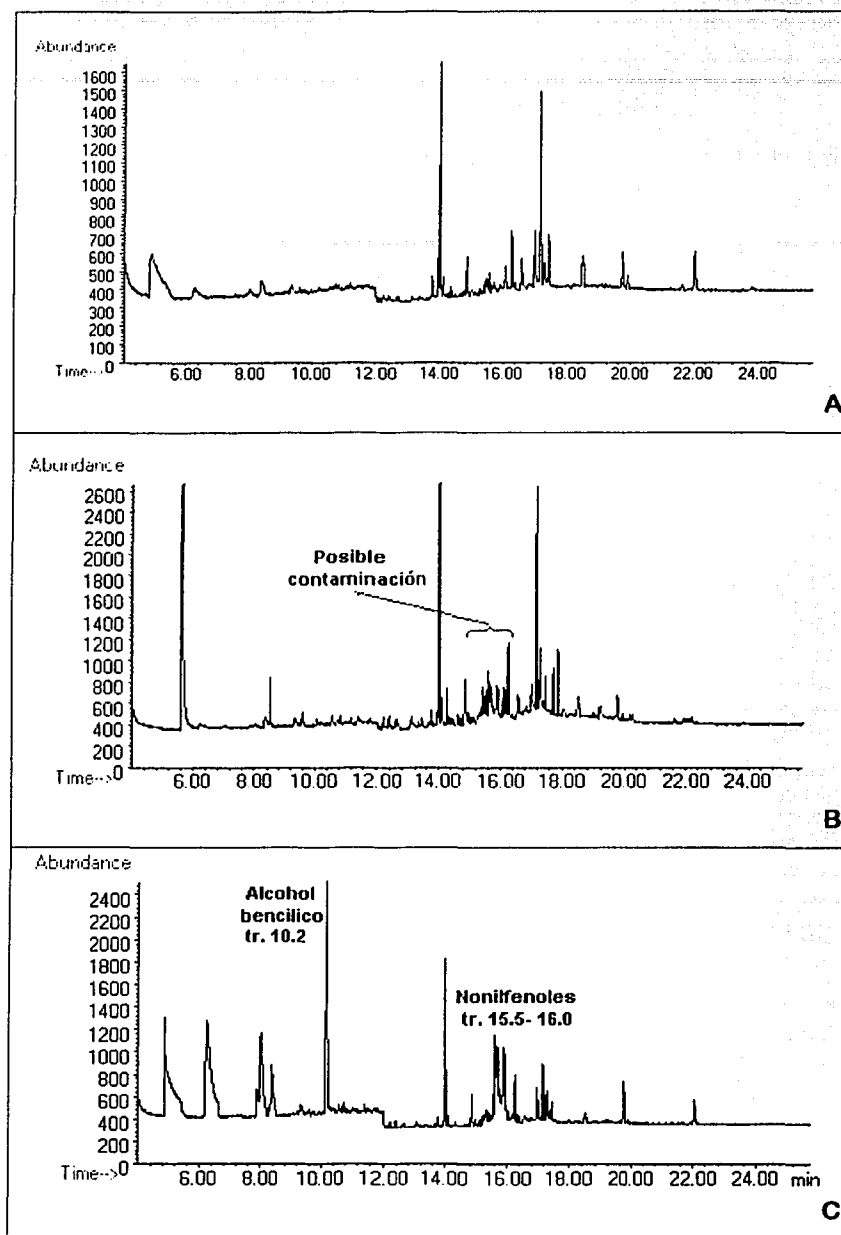


Figura 21. Análisis comparativo entre el (A) blanco de muestra, (B) muestra proveniente del manantial de Cerro Colorado y (C) estándar de Nonilfenoles por MEFS-CG-EM (200 ng/L)

Como se mencionó anteriormente, la muestra presenta un grupo de picos con tiempo de retención semejante al encontrado para los nonilfenoles. Además de esta evidencia se cuenta con el espectro de masas, que es una herramienta más poderosa para discernir si se trata de estos compuestos.

El cromatograma de la figura 22A es una ampliación del presentado con anterioridad (figura 21B). La imagen permite observar con claridad las señales antes mencionadas, con tiempos de retención de 15.60, 15.68 y 15.89. Éstas dos últimas tienen especial interés, ya que al analizar su espectro de masas, presentaron un perfil de fragmentación semejante al del analito en estudio. La comparación entre los espectros de la muestra y la biblioteca del programa se presenta también en la figura 22.

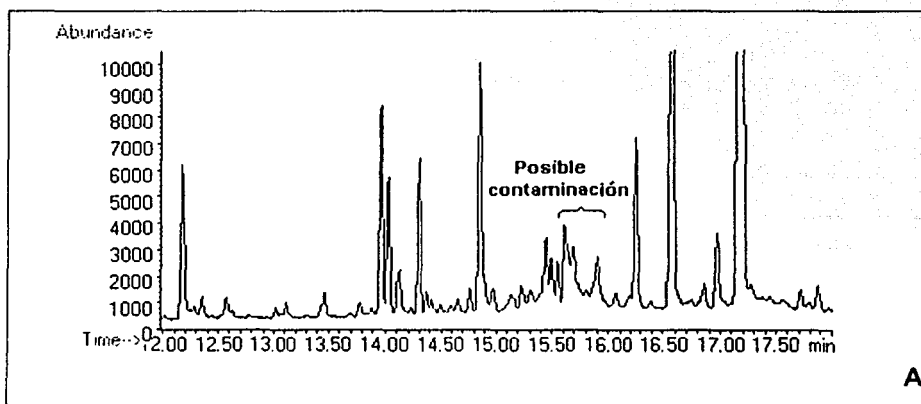


Figura 22. Cromatograma de una muestra del manantial de Cerro Colorado (A) y sus correspondientes espectros de masas para las señales con tr. 15.68 (B), 15.89 (C) y 15.90 (D)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

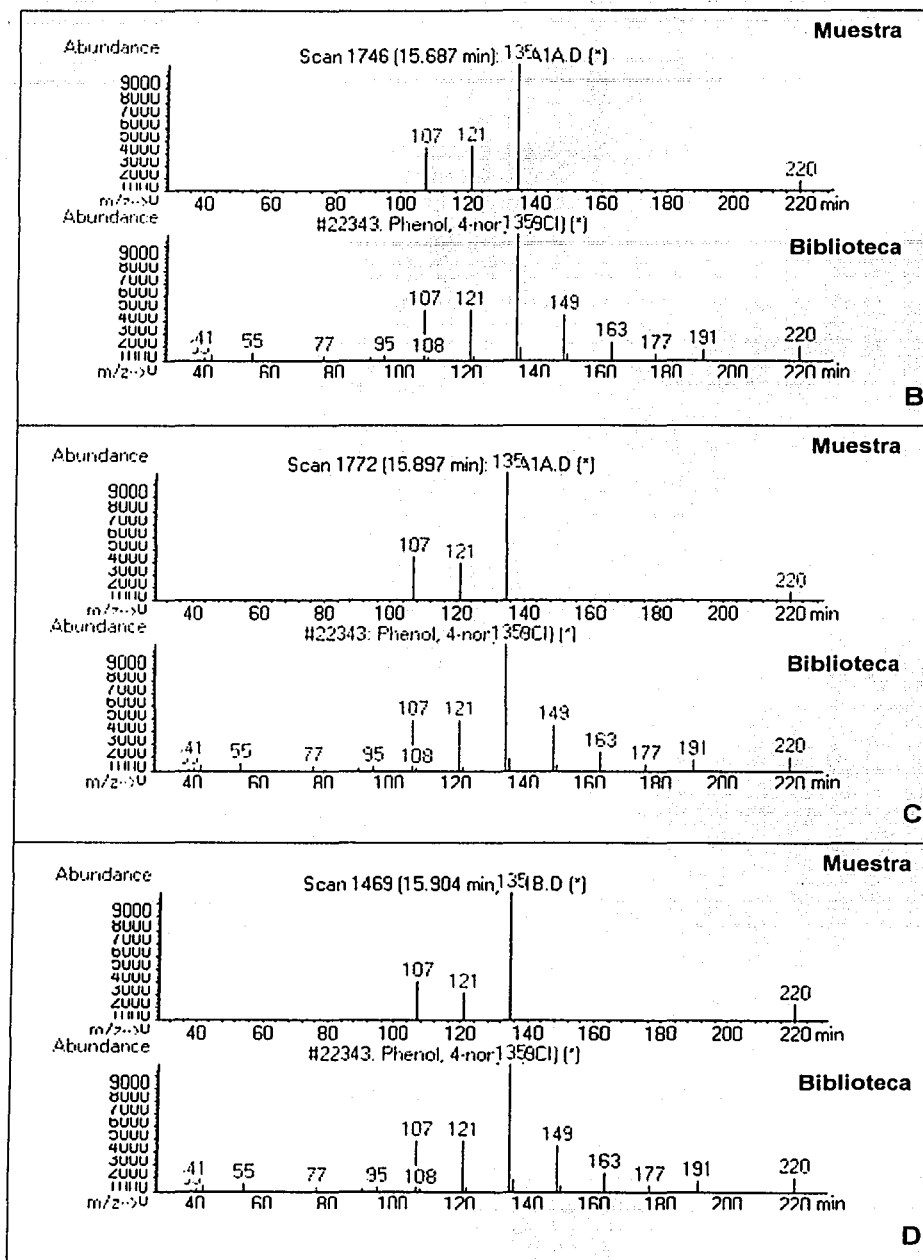


Figura 22. Continuación

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El programa que permite el análisis de los espectros de masas proporciona además varios espectros de referencia, que por su similitud (expresada en porcentaje) con el del análisis en proceso, puede orientar sobre la identidad del compuesto en cuestión. En este caso, la biblioteca presentó como primera posibilidad a los Nonilfenoles (semejanza cercana al 90% confrontados con la referencia), por lo que se confrontaron los resultados obtenidos con los datos encontrados tanto para el espectro de la biblioteca y el del estándar. Los resultados se muestran en la tabla IX.

TABLA IX. Análisis comparativo de la abundancia de iones principales en los EM de las muestras, estándar y biblioteca espectral

m/z	ABUNDANCIA			
	Estándar Nonilfenoles	Biblioteca espectral	Analito tr. 15.68	Analito Tr. 15.89
107	50	38.1	34.9	31.8
121	55	38.1	37.2	31.8
135	100	100	100	100
220	7.5	9.5	9.3	6.8

En todos los casos, el pico base corresponde al ión con m/z 135, originado por la ruptura de la cadena alquílica y la consecuente pérdida de C_6H_{13} . Los siguientes iones m/z 107 y 121, aunque difieren un poco en abundancia con respecto al espectro del estándar, son similares al de la biblioteca y en ambos casos el patrón se mantiene es decir, el porcentaje entre estos iones en el mismo espectro es muy semejante y corresponde a un 45% aproximado de la abundancia del pico base.

Con base en la concordancia de los puntos antes mencionados: los tiempos de retención, y la abundancia de los iones en el espectro de fragmentación, se confirma que la contaminación presente en el agua es por Nonilfenoles, de manera que el paso a seguir es la determinación de la concentración presente en el agua de los puntos muestreados.

Con el fin de comparar las condiciones de la muestra con respecto a las condiciones trabajadas en el método, se determinó el pH de las muestras. Los resultados se muestran en la tabla X.

TABLA X. Valores de pH de las muestras del acuífero del Valle del Mezquital

Muestra	pH (temperatura)
Blanco Cerro Colorado (CC)	7.11 (23.6)
Muestra CC A	7.40 (23.9)
Muestra CC B	7.15 (23.8)
Blanco Tezontepec	7.48 (23.6)
Muestra Tezontepec	7.46 (24.0)

En lo que se refiere a la concentración de sales en las muestras, no se realizó la caracterización de las mismas, pero se conocen los datos reportados de los últimos estudios sobre la calidad del agua de los manantiales muestreados [49], los cuales se muestran en la tabla XI.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

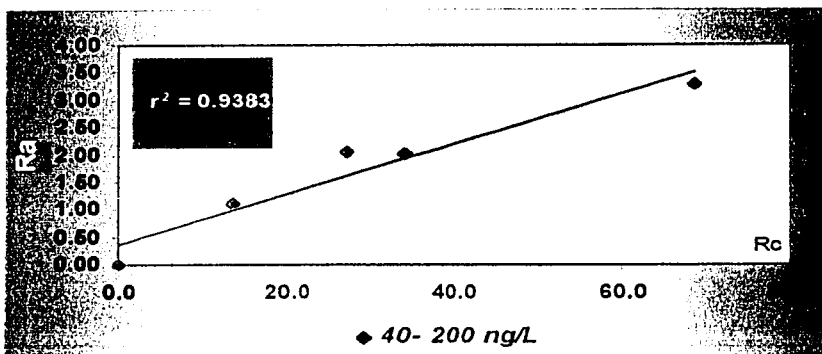
TABLA XI. Concentración de sales en las muestras del acuífero

		Cerro Colorado	Tezontepec de Aldama
pH (Temp. °C)		7.5 (19.9)	7.2 (20.2)
Na	mg/L	210	191
K		41	34
Ca		104	82
Mg		50	59
HCO ₃		544	493
SO ₄		167	185
Cl		182	185
N (NO ₃)		12.9	9.9
N (NO ₂)		0.0048	<0.001
N (NH ₃)		< 0.001	<0.001
PO ₄		0.19	0.117
F		0.78	0.99
Mn		0.003	<0.003
Fe		0.05	<0.02
B	0.83	0.78	
Be	µg/L	< 0.12	<0.2
Al		--	<0.5
Cr		1.89	2.14
Ni		2.7	2.16
Cu		4	5.2
Zn		--	<1.27
Cd		0.31	0.1
Sb		0.16	0.09
Ba		--	--
Tl		0.04	<0.02
Pb	0.55	0.27	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Considerando las sales que se encuentran en mayor proporción en las muestras, se tiene que están presentes en una concentración aproximada de 1310 mg/L, equivalente a 0.13 %. De esta forma, se concluye que si una concentración de sales del 5% no afecta de manera significativa en el proceso de extracción por MEFS, una diferencia de 0.13 % con respecto a las condiciones establecidas (0% de sales) tampoco ejercerán influencia sobre el comportamiento de las muestras ante el método de análisis.

Finalmente, correlacionando con ensayos anteriores y dado que la respuesta entre determinaciones es muy variable entre un día y otro, se determinó que la concentración del analito en la muestra es inferior a los 200 ng/L. De esta forma, se construyó la primera curva para la cuantificación entre 100 y 800 ng/L de NF (con alcohol bencílico a una concentración de 31.2 µg/L). Posteriormente se hizo el análisis de la muestras y se observó una concentración inferior a la más baja analizada en la curva. Por este motivo se construyó otra curva de 40, 80, 100 y 200 ng/L que se muestra en la figura 23.



[NF] µg/L	Alc. Bencílico (Área)	Nonilfenol (Área)	Ra	Rc*10 ⁻⁴
0	29665	0	0.00	0.0
0.04	28951	31819	1.10	13.7
0.08	28337	57834	2.04	27.5
0.1	29094	58287	2.00	34.3
0.2	29781	98090	3.29	68.7

Figura 23. Curva para la cuantificación de Nonilfenoles

El coeficiente de correlación obtenido indica que la curva no se adapta a un modelo lineal, lo cual puede ser ocasionado por el error (expresado como coeficiente de variación) encontrado entre determinaciones. Esto implica que la cuantificación del analito de acuerdo a la ecuación de esta curva tiene cierto porcentaje de error. El análisis de cada muestra se hizo por triplicado y mediante un análisis de regresión lineal, se determinó que la concentración de Nonilfenoles oscila entre los 30 y 70 ng/L con un C.V.= 33%, que se vio aumentado por encontrarse en los límites de detección del método.

La concentración de nonilfenoles encontrada en el manantial de Cerro Colorado es considerablemente menor a la reportada en el trabajo precedente, donde se evaluaron muestras procedentes de una fuente diferente, en este caso el pozo de San Salvador, perteneciente también al DR-03.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VII. CONCLUSIONES

- ◆ Se desarrolló un método por Microextracción en fase sólida- Cromatografía de Gases- Espectrometría de Masas para la cuantificación de nonilfenoles en agua, que a diferencia de los reportados en la literatura, constituye un método específico para éste tipo de compuestos.
- ◆ Se establecieron las condiciones óptimas para la determinación y cuantificación de Nonilfenoles en agua empleando MEFS-CG-EM, desarrollando así un método rápido, eficiente y económico para el análisis de estos compuestos a niveles de trazas. El método es de gran utilidad, ya que puede determinar concentraciones menores a 1 µg/L que es el límite establecido por la NOM para la presencia de compuestos fenólicos en agua para uso y consumo humano (NOM-127-SSA1-1994).
- ◆ Se determinaron los parámetros de linealidad, repetibilidad y límite de detección del método propuesto, encontrándose que pueden observarse cantidades del orden de 70 ng/L con un C.V. del 20%.
- ◆ Se determinó la presencia de Nonilfenoles en el Manantial de Cerro Colorado localizado en el DR-03 en concentraciones menores a 100 ng/L, nivel que se encuentra por debajo de los límites establecidos por la legislación, pero que debe ser tomado en cuenta debido a su valor potencial como indicador o trazador en el sistema de recarga del acuífero por el riego con agua residual y por los efectos que produce sobre la salud de los seres vivos.
- ◆ Es importante recordar que el manantial de Cerro Colorado es de reciente aparición, y como se mencionó en los antecedentes, es uno de los más caudalosos. Al considerar los nonilfenoles como trazadores del sistema de recarga del acuífero, su presencia en el manantial de Cerro Colorado es un indicador de la contaminación a la que éste está siendo sujeto por efecto de las aguas negras.

REFERENCIAS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VIII. REFERENCIAS

1. Uso de aguas residuales en el Valle del Mezquital, Red Panamericana de Información en Salud Ambiental (REPIDISCA), México, 1998.
2. García, L.M.V., Influencia del Agua de Riego sobre la Calidad del Agua Subterránea del DR- 03: Compuestos Orgánicos, Tesis de Grado: Maestría en Ciencias Químicas (Química Analítica), UNAM, 1999.
3. Chávez, R., Influencia del Riego con Aguas Residuales sobre la Calidad del Agua Subterránea del Valle del Mezquital, en el Estado de Hidalgo, México.
4. Department for International Development, Impact of Wastewater Reuse on Groundwater in the Mezquital Valley, Hidalgo State, Mexico, Comisión Nacional del Agua, British Geological Survey, London School of Hygiene and Tropical Medicine, University of Birmingham, 1998.
5. INEGI, Síntesis Geográfica del Estado de Hidalgo, 1992.
6. Jiménez, B., Chávez, A., Leyva, A. & Tchobanoglous, G., Sand and Synthetic Medium Filtration of Advanced Primary Treatment Effluent from Mexico City, *Water Research* 34 (2), 473- 480, 2000.
7. Jiménez, B. & Landa, H., Physico- chemical and Bacteriological Characterization of Wastewater from Mexico City, *Water Science Technology* 37 (1), 1- 8, 1998.
8. Gallegos, E., Warren, A., Robles, E., Campoy, E., Calderón, A., Sainz, M.G., Bonilla, P. & Escolero, O., The Effects of Wastewater Irrigation on Groundwater Quality in Mexico, *Water Science Technology* 40 (2), 45- 52, 1999.
9. Torres, L.G., Jaimes, J., Mijaylova, P., Ramírez, E. & Jiménez, B., Coagulation- flocculation Pretreatment of High- load Chemical- pharmaceutical Industry Wastewater: Mixing Aspects, *Water Science Technology* 36 (2- 3), 255- 262, 1997.
10. <http://www.worldwildlife.org/toxics/pubres/ctclsp1>.
11. U.S. Environmental Protection Agency, EPA/630/R-96/012 Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis, Risk Assessment Forum, U.S. EPA, Washington, D.C., 1997.

12. Jiménez, B., Environmental Effects of Endocrine Disruptors and Current Methodologies for Assessing Wildlife Health Effects, *Trends in Analytical Chemistry* 16 (10), 596- 606, 1997.
13. West, J.B., Bases fisiológicas de la práctica médica, 12ª ed., Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, 1993.
14. Calandra, R.S. & De Incola, A.F., Endocrinología Molecular, Ed. El Ateneo, Buenos Aires, 1985, 1- 2.
15. Guyton, A.C. & Hall, J.E., Tratado de Fisiología Médica, 9ª. edición, Ed. Interamericana- McGraw-Hill, México, 1997, 1010- 1014.
16. Sonnenschein, C. & Soto A.M., An Updated Review of Environmental Estrogen and Androgen Mimics and Antagonists, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 65 (1- 6), 143- 150, 1998.
17. Working Group of Endocrine Disrupters, CSTE Opinion on Human and Wildlife Health Effects of Endocrine Disrupting Chemicals, with Emphasis on Wildlife and on Ecotoxicology Test Methods, CSTE, 1999.
18. Nelson, W., Tratado de Pediatría, 4ª edición, Salvat Editores, Barcelona, 1960.
19. <http://www.endsreport.com>
20. NOM-001-ECOL-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, Diario Oficial de la Federación, México, 24 de junio de 1996.
21. NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano- Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización, Diario Oficial de la Federación, México, 18 de enero de 1996.
22. Madigou, T., Le Goff, P., Salbert, G., Cravedi, J.P., Segner, H., Pakdel, F. & Valotaire, Y., Effects of Nonylphenol on Estrogen Receptor Conformation, Transcriptional Activity and Sexual Reversion in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquatic Toxicology* 53, 173- 186, 2001.
23. White, R., Jobling, S., Hoare, S.A., Sumpter, J.P. & Parker, M.G., Environmentally Persistent Alkylphenolic Compounds are Estrogenic, *Endocrinology* 135 (1), 175- 182, 1994.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

24. bkh consulting engineers, Towards the establishment of a priority list of substances for further evaluation of their role in endocrine disruption: preparation of a candidate list of substances as a basis for priority setting. Final report. European Commission DG ENV, Delft, 2000.
25. Ferguson, S.A., Flynn, K.M., Delclos, K.B. & Newbold, R.R., Maternal and Offspring Toxicity but Few Sexually Dimorphic Behavioral Alterations Result from Nonylphenol Exposure, *Neurotoxicology and Teratology* 22, 583- 591, 2000.
26. Barták, P. & Lubomír, C., Determination of Phenols by Solid-phase Microextraction, *Journal of Chromatography A* 767, 171- 175, 1997.
27. Moeder, M., Schrader, S., Winkler, M. & Popp, P., Solid-phase Microextraction – Gas Chromatography – Mass Spectrometry of Biologically Active Substances in Water Samples, *Journal of Chromatography A* 873, 95- 106, 2000.
28. Buchholz, K.D. & Pawliszyn, J., Optimization of Solid-phase Microextraction Conditions for Determination of Phenols, *Analytical Chemistry* 66, 160- 167, 1994.
29. Petrovic, M. & Barcelo, D., Determination of Anionic and Nonionic Surfactants, Their Degradation Products, and Endocrine Disrupting Compounds in Sewage Sludge by Liquid Chromatography/ Mass Spectrometry, *Analytical Chemistry* 72, 4560- 4567, 2000.
30. Ferguson, P.L., Iden, C. & Brownawell, B.J., Analysis of Nonylphenol and Nonylphenol Ethoxylates in Environmental Samples by Mixed- mode High- Performance Liquid Chromatography- Electrospray Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A* 938, 79- 91, 2001.
31. Kvistad, A.M., Lundanes, E. & Greibrokk, T., Determination of Alkylphenols in Water Samples by Solid- Phase Extraction on to Poly(styrene- divinylbenzene) and Quantification by Liquid Chromatography with UV- Detection, *Chromatographia* 48(9- 10), 707- 713, 1998.
32. Rudel, R., Melly, S.J., Geno, P.W., Sun, G. & Brody, J.G., Identification of Alkylphenols and other Estrogenic Phenolic Compounds in Wastewater, Septage, and Groundwater on Cape Cod, Massachusetts, *Environmental Science & Technology* 32, 861- 869, 1998.

33. Mol, H.G.J., Sunarto, S., Steijger, O., Determination of Endocrine Disruptors in Water After Derivatization with *N*-methyl-*N*-(*tert*-butyldimethyltrifluoroacetamide) Using Gas Chromatography With Mass Spectrometric Detection, *Journal of Chromatography A* 879, 97-112, 2000.
34. Helaleh, M.I.H., Takabayashi, Y., Fujii, S. & Korenaga, T., Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Method for Separation and Detection of Endocrine Disruptors from Environmental Water Samples, *Analytica Chimica Acta* 428, 227-234, 2001.
35. Takino, M., Daishima, S. & Yamaguchi, K., Determination of Nonylphenol Ethoxylate Oligomers by Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry in River Water and Non-ionic Surfactants, *Journal of Chromatography A* 904, 65-72, 2000.
36. Inoue, K., Yoshie, Y., Kondo, S., Yoshimura, Y. & Nakazawa, H., Determination of Phenolic Xenoestrogens in Water by Liquid Chromatography with Coulometric-Array Detection, *Journal of Chromatography A* 946, 291-294, 2002.
37. Hoffman, B.J. & Taylor, L., A Study of Polyethoxylated Alkylphenols by Packed Column Supercritical Fluid Chromatography, *Journal of Chromatographic Science* 40, 61-68, 2002.
38. Bruzzoniti, M.C., Sarzanini, C. & Mentasti, E., Preconcentration of Contaminants in Water Analysis, *Journal of Chromatography A* 902, 289-309, 2000.
39. Castillo, M. & Barceló, D., Analysis of Industrial Effluents to Determine Endocrine-Disrupting Chemicals, *Trends in Analytical Chemistry* 16 (10), 574-583, 1997.
40. Clement, R.E., Yang, P.W. & Koester, C.J., Environmental Analysis, *Analytical Chemistry* 73, 2761-2790, 2001.
41. Namiesnik, J. & Wardencki, W., Solventless Sample Preparation Techniques in Environmental Analysis, *Journal of High Resolution Chromatography* 23 (4), 297-303, 2000.
42. Pawliszyn, J., Solid Phase Microextraction: Theory and Practice, Wiley-VCH, Nueva York, 1997.
43. Lord, H. & Pawliszyn, J., Evolution of Solid-Phase Microextraction Technology, *Journal of Chromatography A* 885, 153-193, 2000.

-
44. SUPELCO, Productos para Cromatografía, Catálogo 1999.
45. Prosen, H. & Zupancic- Kralj, L., Solid- phase Microextraction, *Trends in Analytical Chemistry* 18 (4), 272- 282, 1999.
46. Labastida, L., Determinación de Clorhidrato de Lincomicina en Columnas Capilares por Cromatografía de Gases, Tesis de Licenciatura (QFB), UNAM, México, D.F., 1989.
47. Inman, E.L. *et.al.*, General Method Validation Guidelines for Pharmaceutical Samples, *Journal of Chromatographic Science* 25, 252- 256, 1987.
48. Miller, J.C., Estadística para Química Analítica, 2ª. Ed., Addison- Wesley Iberoamericana, Delaware, 1993.
49. Jiménez, B. & López, N., Estudio de la Calidad y Suministro del Agua para Consumo Doméstico en el Valle del Mezquital, Avance del Proyecto 5322 para la Comisión Nacional del Agua, México, 1995.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN